

**PATHOPHYSIOLOGIE UND REGENERATIONSFÄHIGKEIT
DER CHRONISCHEN EINSEITIGEN HARNSTAUUNGSNIERE
UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER
($\text{Na}^+ + \text{K}^+$) - ATPASE**

MICHAEL BÜTTNER

1987

Disbui. München

1987





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung der Universität München

Vorstand Prof. Dr. Dr. h. c. W. Brendel

PATHOPHYSIOLOGIE UND REGENERATIONSFÄHIGKEIT DER CHRONISCHEN
EINSEITIGEN HARNSTAUUNGSNIERE UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER
 $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von Michael Büttner

aus Frankfurt/Main

1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:

1. Prof. Dr. A. Baethmann

2. Prof. Dr. E. Erdmann

Mitberichterstatter:

1. Prof. Dr. Dr. W. Brendel

2. Prof. Dr. H. H. Edel

Mitbetreuung durch den

promovierten Mitarbeiter:

Dr. W. F. Wieland

Dekan:

Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 16.7.1987

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung
2. Material und Methodik
 - 2.1 Material
 - 2.2 Experimentelle Gruppen
 - 2.3 Nierenfunktionsuntersuchungen in vivo
 - 2.3.1 Operative Technik
 - 2.3.2 Messung der Na^+ -, K^+ -Konzentration und Osmolalität
 - 2.3.3 Bestimmung der renalen Clearance von PAH und Inulin
 - 2.4 Gewebeuntersuchungen
 - 2.4.1 Gewebeaufbereitung
 - 2.4.2 Bestimmung des Na^+ -, K^+ - und Harnstoffgehaltes
 - 2.4.3 Messung der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ -Aktivität
 - 2.4.4 Untersuchung der g-Strophanthinbindung an Nieren- und Herzzellmembranen
 - 2.5 Statistik
3. Ergebnisse
 - 3.1 PAH-Clearance
 - 3.2 Inulin-Clearance
 - 3.3 Na^+ -Konzentration in Urin und Plasma
 - 3.4 K^+ -Konzentration im Urin
 - 3.5 Urinosmolalität
 - 3.6 Osmotisch aktive Substanzen im Nierengewebe
 - 3.7 $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$
 - 3.8 Regressionsgeraden

4. Diskussion

4.1 PAH- und Inulin-Clearance

4.2 Na^+ - und K^+ -Ausscheidung

4.3 Osmotische Konzentrierung

5. Zusammenfassung

6. Literaturverzeichnis

1. Einleitung

Eine einseitige Hydronephrose kann bei einer Reihe von Erkrankungen entstehen. Zu den häufigsten Ursachen zählen Harnleitersteine und Tumoren des Harnleiters oder benachbarter Organe. Eine einseitige Hydronephrose wird in der Klinik häufig erst spät bemerkt, da die gegenseitige Niere den Funktionsausfall voll kompensieren kann. Für prognostische Aussagen über die Erholungsfähigkeit einer einseitig gestauten Niere wäre ein Anhaltspunkt für die Zeit wünschenswert, wann mit einer maximalen Regeneration der Niere gerechnet werden kann. Kerr (1954, 1956) fand nach einwöchiger einseitiger Harnstauung eine Erholung der PAH- und Inulin-Clearance auf 2/3 des Ausgangswertes hingegen eine irreversible Schädigung nach vierwöchiger Harnstauung. Die Messung verschiedener Funktionsparameter im Verlauf nach ein-, zwei-, drei- und vierwöchiger Harnstauung sollte daher eine Aussage über das Zeitintervall ermöglichen, in dem eine maximale Regeneration erfolgt.

Neuere Vorstellungen über die Pathophysiologie der Harnstauungsniere wurden von Wilson (1980) entwickelt. Eine Verminderung der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ -Aktivität im äußeren Nierenmark bei reduzierter osmotischer Konzentrationsfähigkeit ist seit längerem bekannt (Martinez-Maldonado et al. 1969, 1970; Williams und Fanestil, 1976; Wilson et al., 1978). Es fehlen aber Kenntnisse über das Verhalten der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ während der Regeneration einer einseitigen Hydronephrose. Auch liegen bislang keine Erkenntnisse vor, ob eine Verminderung der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ -Aktivität durch Veränderung von Enzymeigenschaften oder -menge bedingt ist. In diesen Untersuchungen sollte die osmotische

Konzentrierungsfähigkeit mit der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ -ATPase-Aktivität und Anzahl von Strophanthin-Bindungsstellen im äußeren Mark nach unterschiedlichen Harnstauungsperioden und Erholungsphasen verglichen werden. Gleichzeitig wurde die Umsatzrate von ATP sowie die Dissoziationskonstante, K_D , die Assoziationsgeschwindigkeitskonstante, k_{+1} , und die Dissoziationsgeschwindigkeitskonstante, k_{-1} , für Strophanthin bestimmt. Zur Messung der osmotischen Konzentrierungsfähigkeit wurden alle Messungen nach 20-stündiger Wasser- und Nahrungskarenz durchgeführt. PAH- und Inulin-Clearance sind unter diesen Bedingungen vermindert und stimmen mit dem renalen Plasmafluß bzw. der glomerulären Filtrationsrate nur wenig überein.

2. Material und Methodik

2.1 Material

Inulin wurde als 10 %ige pyrogenfreie Lösung von der Fa. Laevosan Co KG, Linz Donau, Oesterreich erworben. Die PAH-Lösung wurde aus dem Na^+ -Salz der PAH-Säure (Fa. Serva, Feinbiochemie, Heidelberg) hergestellt und mit Zitronensäure auf pH 7 abgepuffert. Für die Bestimmung der Harnstoffkonzentration mit der Urease-Berthelod Reaktion wurde ein Test-Kit der Fa. Boehringer, Mannheim verwendet. ^3H -Strophanthin (spezifische Aktivität 18 Ci/mmol) wurde von der Fa. New England Nuclear, Dreieich erworben. Alle anderen Chemikalien waren von analytischer Reinheit und wurden von Boehringer Mannheim oder Merck Darmstadt erworben.

.

2.2 Experimentelle Gruppen

Als Versuchstiere dienten weibliche Beagles mit einem Körpergewicht von 9 - 15 kg. Die Versuche wurden in vier Gruppen unterteilt: ein-, zwei-, drei- und vierwöchige vollständige einseitige Harnstauung.

PAH-Clearance, Inulin-Clearance, Na^+ -Konzentration in Plasma und Urin, K^+ -Konzentration im Urin sowie die Urin-Osmolalität dienten als in vivo Parameter für die Nierenfunktion und wurden stets nach 20-stündiger Wasser- und Nahrungskarenz gemessen. Diese Messungen fanden bei allen Gruppen vor Anlegen und sofort nach Aufheben der Harnstauung statt. Verlaufsbeobachtungen in der Erholungsphase wurden nach einwöchiger Harnstauung am 10., 21., 28. und 56. Tag, bei allen anderen Gruppen am 10., 28., 56. und 84. Tag durchgeführt.

2.3 Nierenfunktionsuntersuchungen in vivo

2.3.1 Operative Technik

Die Versuchstiere wurden initial mit Pentobarbital (Nembutal^R, Fa. Abbott, Ingelheim; 30 mg/kg Körpergewicht) narkotisiert. Die Narkose wurde später mit Einzeldosen von 5 mg Pentobarbital nach Bedarf aufrechterhalten. Nach Narkoseeinleitung wurde ein Endotrachealtubus (7,5 Charriere) gelegt; auf Beatmung wurde verzichtet. Die Zufuhr von Pentobarbital, PAH und Inulin erfolgte über einen venösen Verweilkatheter (Abbocath^R, Fa. Venisystems) an einem der Vorderläufe. Alle Blutproben wurden über einen Verweilkatheter aus einer Vena jugularis externa gewonnen. Urinproben wurden über eine armierte pädiatrische Ernährungssonde (Fa. Mallinckrodt; 5-7 Charriere) aus dem Nierenbecken entnommen. Der Blutdruck wurde über einen Verweilkatheter in der Arteria femoralis und ein Statham Druckelement gemessen (Abb. 1).

Zur Ureterligatur wurde der Bauchraum durch eine mediane Laparotomie steril eröffnet. Der rechte Ureter wurde aufgesucht und mit 2-0 Dexon^(R) (Fa. Braun) blasennah einfach ligiert. Sofort anschließend wurde der Ureter proximal abgesetzt, und eine armierte pädiatrische Ernährungssonde (Fa. Mallinckrodt) mit einem Kaliber von 5 Charriere eingeführt, die bis ins Nierenbecken vorgeschoben wurde. Nach Entnahme aller Urinproben (siehe unten) wurde die Sonde entfernt, und der Ureterstumpf durch einfache Ligatur mit 2-0 Dexon verschlossen. Der Peritonealraum wurde mit einer fortlaufenden Naht (2-0 Catgut), Faszie und Haut mit Einzelknopfnähten (3-0 Vicryl bzw. 4-0 Seide) verschlossen.

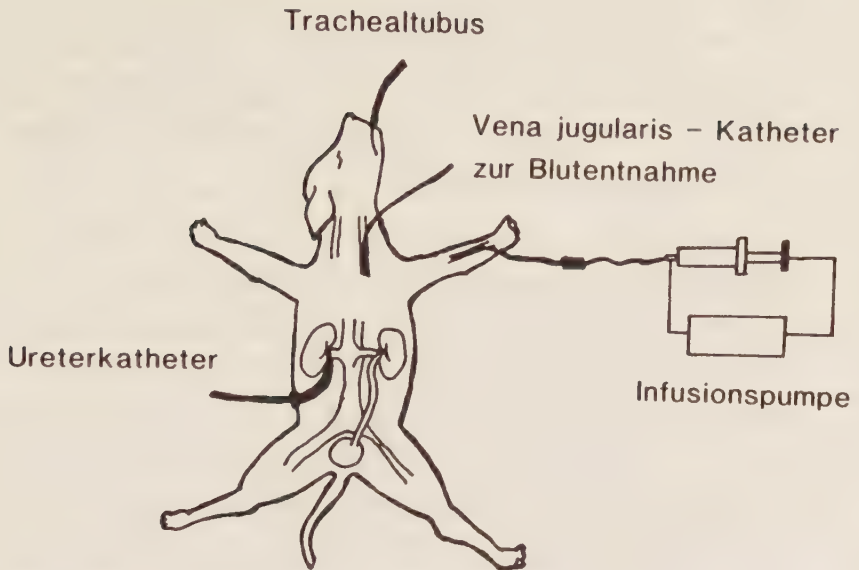


Abbildung 1 Versuchsaufbau in vivo:

Die Versuchstiere wurden mit Pentobarbital narkotisiert und endotracheal intubiert aber nicht beatmet. Alle Blutentnahmen erfolgten über einen Katheter in der Vena jugularis, Injektionen und Infusionen über einen Venenkatheter am Vorderlauf. Auf der rechten Seite wurde ein Ureter-Haut-Stoma angelegt und das Nierenbecken katheterisiert.

Nach der jeweiligen Harnstauungsperiode wurde relaparotomiert, der Ureterstumpf aufgesucht, eröffnet, und ein passender Katheter eingeführt, der bis ins Nierenbecken vorgeschoben wurde. Nach Entnahme aller Urinproben wurde ein kutanes Ureterstoma nach der Technik von Toyoda (1977) angelegt: Der Ureter wurde so weit freipräpariert, daß er sich spannungsfrei durch die Haut führen ließ. Es wurde eine Fistel durch die Bauchwand angelegt, die weit aufgespreizt wurde. Auf diese Weise konnte eine Restenosisierung der Ureters vermieden werden. Der



Ureter wurde durch die Bauchwand geführt, und seitlich so eingeschnitten, daß zwei rechteckige Lappen entstanden. An der Fistelöffnung wurde ein den Lappen entsprechendes Stück Oberhaut abpräpariert, und die beiden Lappen subkutan angenäht. Der Bauchraum wurde wie beschrieben verschlossen.

2.3.2 Messung von Na^+ -, K^+ -Konzentration und Osmolalität

Als Maß für die osmotische Konzentrierungsfähigkeit wurde die Osmolalität im Nierenbeckenurin nach 20-stündiger Wasser- und Nahrungskarenz definiert. Aperia et al. (1982) wählten eine Wasser- und Nahrungskarenz von 16 Stunden. Zur Bestimmung der Osmolalität wurde eine Urinprobe vor Anlegen der zur simultanen PAH- und Inulin - Clearance notwendigen Infusion (siehe unten) entnommen. Die Osmolalität wurde durch Gefrierpunktserniedrigung mit einem Osmometer (Fa. Knauer, Oberursel) bestimmt.

Die Messung der Na^+ - und K^+ -Konzentrationen wurde in Blut- und Urinproben vor Infusion von PAH und Inulin durchgeführt. Die Blutproben wurden dazu 3 min bei 2000 U/min zentrifugiert (Eppendorf Zentrifuge 3200) und das Plasma abpipettiert. Die Na^+ - und K^+ -Konzentration in Plasma und Urin wurde flammenphotometrisch (Eppendorf Flammenphotometer FCM 6143) bestimmt.

2.3.3 Bestimmung der renalen Clearance von PAH und Inulin

Die simultane PAH- und Inulin-Clearance wurde modifiziert nach Richterich (1971) bestimmt. Nach einem initialen Bolus von 3.5 ml einer Natrium-p-Amino-Hippurat-Lösung (2%) und 18 ml einer pyrogenfreien Inulinlösung (10%) wurde hierfür eine Lösung mit Perfusor (Fa. Braun,

Melsungen) infundiert bestehend aus 3 ml einer Natrium-p-Amino-Hippurat-Lösung (20%, pH = 7), 32 ml einer pyrogenfreien Inulinlösung (10%) und 185 ml isotoner NaCl-Lösung. Die Infusionsgeschwindigkeit betrug 30 ml/h. Nach einer Äquilibrierungsphase von 30 min wurde in 3 aufeinanderfolgenden 20-minütigen Intervallen der gesamte Urin in 1 ml Spritzen (Fa. Braun, Melsungen) gesammelt, und das Volumen ermittelt. Blutproben wurden am Anfang und am Ende jeder Sammelperiode entnommen.

Die PAH-Konzentration wurde durch eine Farbstoffreaktion (Bratton-Marshall Reaktion) bestimmt. Durch zuvor an PAH gebundenes Nitrit wird N-(1-Naphthyl)-Äthylen-Diamin in das violette N-(1-Naphthyl)-Äthylen-Diazonium-Salz übergeführt. Die Reaktion ist nach 15 min abgeschlossen und der Farbstoff mindestens 1 Stunde stabil.

Zur Bestimmung wurde der Urin 1:100 verdünnt. In 0,1 ml Serum, verdünntem Urin bzw. Standard wurde enthaltenes Eiweiß durch Zugabe von 2,5 ml 0,45% Zinksulfat (ZnSO_4) und 0,5 mmol 0,1 n Natronlauge (NaOH) gefällt und 10 min bei 3000 U/min abzentrifugiert (Zentrifuge Fa. Hettich, Rofixa/K). Der Überstand wurde vollständig in ein Reagenzglas überführt, 0,25 ml 2 n Salzsäure (HCl) sowie 0,25 ml 0,2 % Natriumnitrit (NaNO_2) zugeführt und gut vermischt. Nach 5 min wurde freies Nitrit durch Zugabe von 0,25 ml 2% Lösung des Ammoniumsulfates der Aminosulfosäure ($\text{NH}_4\text{SO}_3\text{NH}_2$) gebunden. Nach weiteren 5 min wurden 0,25 ml 1% N-(1-Naphthyl)-Äthylen-Diamin zugefügt. Die Extinktionsmessung erfolgte nach 30 min an einem Eppendorf Photometer bei 546 nm und einer Küvetten Innenweite von 1 cm

(Makroküvetten, Fa. Ratiolab) mit aqua bidest. als Referenzprobe. Das Lambert-Beersche Gesetz gilt für die Beziehung zwischen Farbstoffkonzentration und Extinktion (Wesson, 1965; Richterich, 1971):

$$K_{PAH} = \frac{E_{Probe} \times K_{Standard}}{E_{Standard}}$$

Dabei bedeuten: K_{PAH} = PAH-Konzentration, E_{Probe} = Extinktion der Probe, $E_{Standard}$ = Extinktion des Standards, $K_{Standard}$ = PAH-Konzentration des Standards. Die Extinktion in Plasma und Urin vor Beginn des PAH-Inulin-Infusion war stets kleiner als 0,005.

Die Inulin-Konzentration wurde durch die "Anthrone-Reaktion" ermittelt. Unter bestimmten Bedingungen reagiert Anthrone-Reagenz mit Inulin aber nicht mit Glukose. Die Reaktion ergibt einen grünen Farbstoff, dessen Intensität bei 578 nm gemessen werden kann (Hinsberg, 1960; Richterich, 1971).

Zur Herstellung des Anthrone-Reagenzes wurden unter Kühlung 100 ml aqua bidest. zu 250 ml konzentrierter Schwefelsäure (H_2SO_4) gegeben. 0,1 g Anthrone (Fa. Merck, Darmstadt) wurde in 50 ml der verdünnten Schwefelsäure gelöst. Urin wurde zur Bestimmung 1:100 verdünnt. 0,1 ml Plasma oder verdünnter Urin wurde mit 0,9 ml Trichloressigsäure enteiweißt. Es folgte 5 min Zentrifugation bei 3000 U/min (Zentrifuge Fa. Hettich) 10 min nach Zugabe der Trichloressigsäure. 0,1 ml Überstand, bzw. 0,1 ml aqua bidest., bzw. 0,1 ml Standard wurden zu 5 ml Anthrone-Reagenz gegeben, gut vermischt und 10 min bei 55°C inkubiert. Die Extinktionsmessung erfolgte mit einem Eppendorf Photometer und Makroküvetten (Fa. Ratiolab). Referenzprobe war ein Reagentienleerwert aus 5 ml Anthrone-Reagenz und

0,1 ml aqua bidest. Die Inulin-Konzentration wurde wie oben berechnet. Extinktionsleerwerte in Plasma und Urin vor Beginn der PAH - Inulin - Infusion waren stets kleiner als 0,005.

Für jede Sammelperiode wurde die PAH- und die Inulin- Clearance nach der Formel

$$C = \frac{U \times V}{P \times t}$$

berechnet. Hierbei sind: C = renale Clearance von PAH bzw. Inulin, U = PAH- bzw. Inulin-Konzentration im Urin einer Sammelperiode, V = Urinvolumen einer Sammelperiode, P = Mittelwert aus PAH- bzw. Inulin-Konzentration im Plasma am Anfang und am Ende der Sammelperiode, t = Dauer der Sammelperiode. Das arithmetische Mittel der Clearance-Ergebnisse aus den drei Sammelperioden wurde auf das Körpergewicht der Versuchstiere am ersten Versuchstag (Ureterligatur) bezogen, um, von eventuellen Änderungen des Körpergewichtes während des Beobachtungszeitraumes unabhängig, vergleichbare Werte für unterschiedlich große Hunde zu erhalten.

Nach Abnahme aller Blut- und Urinproben zur Bestimmung der PAH- und Inulin-Clearance wurde zur Bestimmung der renalen Extraktion von PAH in einigen Fällen die Vena renalis intraoperativ aufgesucht und mindestens 1 cm vor der Mündung in die Vena cava punktiert. Das Blut wurde langsam mit einer 1 ml-Spritze aspiriert. Die Dauer der Blutentnahme betrug mindestens 1 min, um ein Ansaugen von Blut aus der vena cava zu vermeiden. Aus der Arteria femoralis wurde anschließend eine Blutprobe entnommen. Die renale Extraktion von PAH errechnet sich nach der Formel

$$E_{PAH} = \frac{PAH_a - PAH_v}{PAH_a}$$

wobei E_{PAH} = renale Extraktion von PAH, PAH_a = PAH-Konzentration in der Arteria femoralis, PAH_v = PAH-Konzentration in der Vena renalis bedeuten.

Der aktive Transport von PAH im proximalen Tubulus erreicht bei steigenden PAH-Konzentrationen eine Sättigung. Das Transportmaximum für PAH unterliegt verschiedenen Bedingungen (Deetjen, 1961). Die Plasmakonzentration, bei der der Transport in einer vier Wochen gestauten Niere gesättigt ist, wurde anhand einer PAH-Titrationskurve ermittelt. Die im proximalen Tubulus aktiv sezernierte Menge errechnet sich aus der Differenz zwischen ausgeschiedener Gesamtmenge (Urinkonzentration mal Harnzeitvolumen) und glomerulär filtrierter Menge (Plasmakonzentration mal glomeruläre Filtrationsrate). Trägt man die sezernierte PAH-Menge gegen die jeweils gemessene Plasmakonzentration auf, so lassen sich Transportmaximum und zugehörige PAH-Konzentration ablesen (Abb. 2).

Zur Durchführung wurde eine simultane PAH-Inulin-Clearance mit Infusion einer konstanten Menge Inulin und Flüssigkeit bei steigenden Mengen von PAH vorgenommen. Als initialer Bolus wurden 18 ml einer 10% Inulinlösung injiziert. Die Infusionen enthielten 32 ml 10% Inulinlösung, steigende Mengen 20% PAH-Lösung (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ml) und isotone Kochsalzlösung ad 320 ml. Während jeder der verschiedenen Infusionen wurde nach einer Äquilibrierungsphase von 30 min die in 15 min ausgeschiedene Urinmenge in einer kalibrierten 1 ml Spritze quantitativ aufgefangen und das Volumen ermittelt. Am Anfang und am Ende jeder Sammelperiode wurde eine Blutprobe entnommen. PAH- und Inulin-Konzentrationen in Plasma und Urin wurden wie oben angegeben bestimmt. Der Mittelwert der PAH-Konzentration im Plasma am Anfang und

am Ende der Sammelperiode wurde als Größe der PAH-Plasmakonzentration eingesetzt. Die Inulin-Clearance wurde für jede Sammelperiode gesondert bestimmt und als Größe für die glomeruläre Filtrationsrate eingesetzt. Das Transportmaximum ($T_{m \text{ PAH}}$) der untersuchten, vierwöchig gestauten Niere war 0,4 mg/min und wurde ab einer PAH-Plasmakonzentration von etwa 4 mg/dl erreicht. Die zur Bestimmung der PAH-Clearance gemessenen PAH-Plasmakonzentrationen lagen mit ca. 1 mg/dl stets deutlich unter diesem Wert.

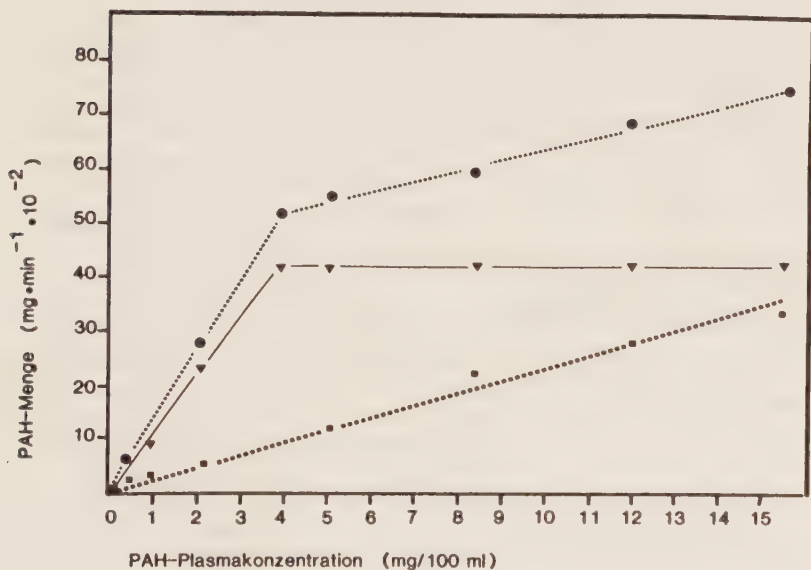


Abb. 2 PAH-Titrationskurve: Die PAH-Titrationskurve wurde von einer vierwöchig gestauten Niere ohne Erholungsphase erhalten. Die einzelnen Messpunkte wurden in einer 15 minütigen Sammelphase jeweils nach einer 15 minütigen Equilibrierungsphase bestimmt.

● = ausgeschiedene PAH-Menge (PAH-Konzentration im Urin x Harnzeitvolumen) ■ = filtrierte PAH-Menge (PAH-Plasmakonzentration x Inulin-Clearance) ▼ = sezernierte PAH-Menge (ausgeschiedene PAH-Menge - filtrierte PAH-Menge)

2.4 Gewebeuntersuchungen

2.4.1 Gewebeaufbereitung

Gesunde Nieren, sowie gestaute und kontralaterale Nieren vor und nach der Erholungsphase wurden für Gewebeuntersuchungen verwendet. Die Nieren wurden bei intakter Perfusion freipräpariert, der Nierenhilus abgeklemmt, die Niere unverzüglich entnommen und in Aluminiumfolie auf Eis auf 0°C abgekühlt. Nach Entfernen der Nierenkapsel wurde die Niere mit dem Skalpell in einzelne Pyramiden zerlegt, die sich mit einer Präparierschere leicht in Rinde, inneres und äußeres Nierenmark trennen ließen. Zur Bestimmung des Na^+ - und K^+ -Gehaltes wurden 2 Gewebeproben (ca. 100 mg) sofort in ein Wägegläschen gegeben, das luftdicht verschlossen wurde, und gewogen. Anschließend wurde das Gewebe im geöffneten Wägegläschen 48 Stunden bei 110°C getrocknet. Die getrockneten Gewebeproben wurden gewogen und in elektrolytfreien Gefäßen gemörsert. Zur Bestimmung der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ und des Harnstoffgehaltes wurde das restliche Gewebe sofort nach der Entnahme nach Rinde, innerem und äußerem Mark getrennt und in Zentrifugenröhrchen gefüllt (Fassungsvermögen 2 ml, Fa. Eppendorf) und bis zur Herstellung eines Gewebehomogenates für Messungen der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ und des Harnstoffgehaltes bei -70°C gelagert.

Zur Präparation wurde das Nierengewebe aufgetaut. 0,8 - 1,0 g Feuchtgewebe wurden mit einer Schere zerkleinert und in 15 ml 0,25 M Saccharose - 1 mM EDTA Puffer mit einem Glas-Teflon Homogenisator (Potter, Fa. Braun, Melsungen) bei 0°C (800 U/min) homogenisiert. Um das Gewebe weiter aufzuschließen, wurde das Homogenat bei 0°C 3 min 100 Watt Ultraschall exponiert (Labsonic 1510, Fa. Braun, Melsungen). Größere Bindegewebsanteile wurden mit einem Glas

Homogenisator abgetrennt, gewogen und vom Feuchtgewicht abgezogen. Anschließend wurde das Homogenat gewogen (m_H , siehe 2.4.2) und bei 0°C 15 min bei 100'000 g zentrifugiert (Ultrazentrifuge L5-50 der Fa. Beckmann, Rotor Ti 50). Der Überstand wurde zur Bestimmung des Harnstoffgehaltes im Gewebe (siehe 2.4.2) aufbewahrt, das Sediment wurde in 15 ml Saccharose - EDTA Puffer mit einem Glas-Teflon Potter (Fa. Braun, Melsungen) resuspendiert. Das Homogenat wurde anschließend nochmals bei 0°C 15 min mit 100'000 g zentrifugiert, der Überstand verworfen und das Sediment mit 2 ml pro 100 mg eingewogenen Gewebes resuspendiert. 1 ml dieses Homogenates wurde 3 min bei 2000 U/min zentrifugiert (Eppendorf Zentrifuge 3200). Die K^+ -Konzentration im Überstand wurde flammenphotometrisch (Flammenphotometer FCM 6143, Fa. Eppendorf) bestimmt. Sie war stets kleiner als 0,2 mmol/l. Der Proteingehalt wurde nach Lowry et al. (1951) mit 5% Rinderalbumin-Lösung als Standard bestimmt.

In 3 Fällen wurde nach Entnahme der Nieren das Herz entnommen und in 0,25 M Saccharose - 1 mM EDTA - Puffer sofort auf 0°C gekühlt. Eine Probe aus dem rechten Ventrikel sowie aus zwei Proben aus dem linken Ventrikel (jeweils ca. 300 mg) wurden zu Messungen der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ gewogen, und erst mit einer Schere, dann mit einem auf 0°C vorgekühlten Mixer (Ultra Turrax, Fa. Braun, Melsungen) 2 min in ca. 5 ml vorgekühltem Saccharose - EDTA Puffer zerkleinert. Die Suspension wurde wie das Nierengewebe homogenisiert. Das Homogenat wurde bei 0°C 2 mal bei 100'000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Sediment jeweils mit ca. 5 ml Saccharose - EDTA Puffer resuspendiert.

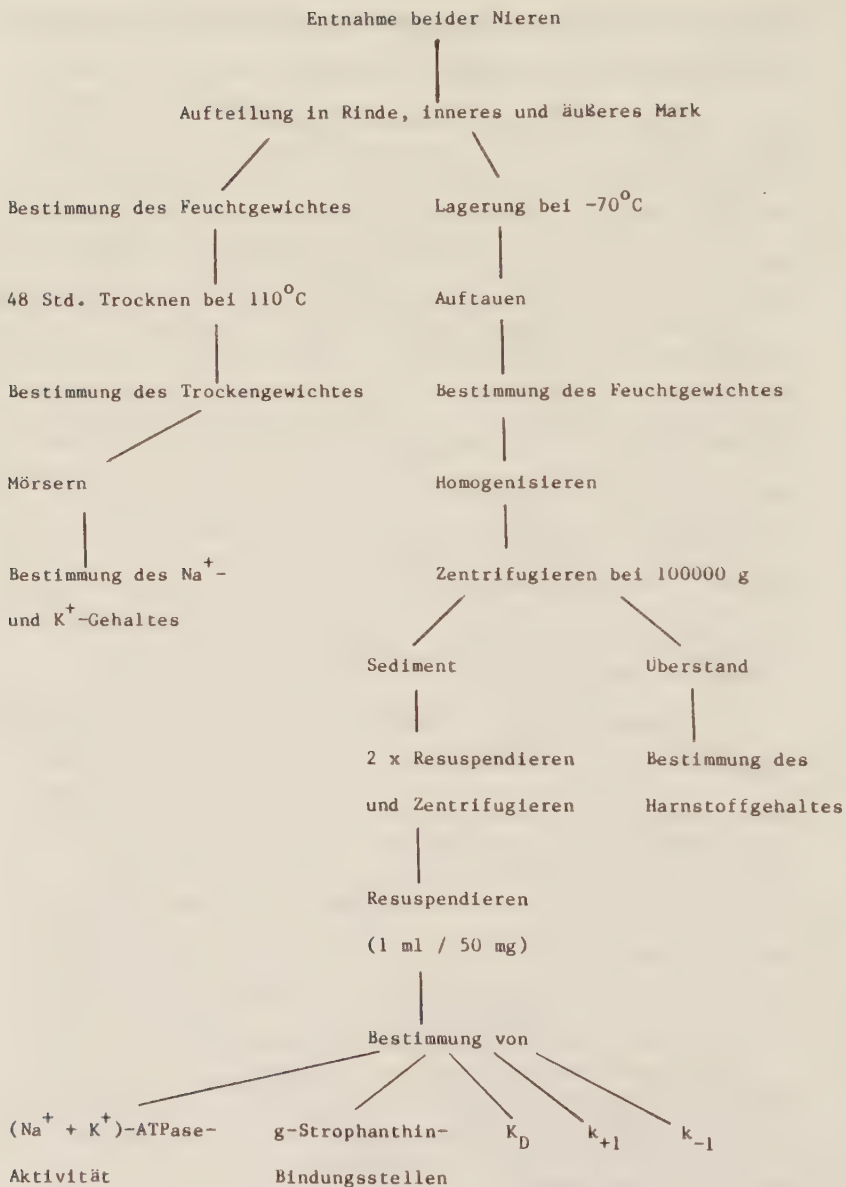


Abb. 3: Verwendung des Nierengewebes

2.4.2 Bestimmung des Na^+ -, K^+ - und Harnstoffgehaltes im Gewebe

Der Na^+ - und K^+ -Gehalt wurde nach Aufschluß des Gewebes in 1 normaler Salpetersäure und Oxidation mit H_2O_2 (30 %) flammenphotometrisch im Überstand gemessen. Jeweils 15 mg gemörseretes Trockengewebe wurden in ein Reagenzglas eingewogen, und mit 1,5 ml 65% Salpetersäure überschichtet. Die Reagenzgläser wurden mit Aluminiumfolie verschlossen und 30 min bei 100°C im Wasserbad inkubiert. Die nunmehr klare Lösung wurde über dem Bunsenbrenner vorsichtig erhitzt und tropfenweise mit 1 ml 30% H_2O_2 aufoxydiert. Der Inhalt der Reagenzgläser wurde quantitativ in Glaskölbchen überführt und mit aqua bidest. auf 10 ml aufgefüllt. Der Inhalt der Kölbchen wurde über S+S Weißband Filter ($\varnothing$ 90 mm) gefiltert. Aus dem unverdünnten Überstand wurde die Na^+ -Konzentration, nach fünffacher Verdünnung die K^+ -Konzentration in einem Flammenphotometer anhand einer stets neu angelegten Eichkurve bestimmt. Aus der Na^+ - bzw. K^+ -Konzentration im Überstand wurde die Na^+ - bzw. K^+ -Menge pro eingewogene Gewebeprobe ermittelt, und mit Hilfe des Wassergehaltes der Na^+ - bzw. K^+ -Gehalt im Feuchtgewebe errechnet.

$$G_{\text{H}_2\text{O}} = \frac{m_f - m_t}{m_f}, \quad G_E = \frac{n_E}{m_P} \times (1 - G_{\text{H}_2\text{O}}),$$

wobei $G_{\text{H}_2\text{O}}$ = Wassergehalt, m_f = Masse des Feuchtgewebes in mg, m_t = Masse des Trockengewebes in mg, G_E = Elektrolytgehalt in mmol/kg Feuchtgewebe, n_E = Stoffmenge der Elektrolyte im Überstand in mmol und m_P = eingewogene Masse der Probe (Trockengewebe) in mg bedeuten.

Zur Bestimmung des Harnstoffgehaltes im Gewebe wurde der

Überstand des Gewebehomogenates in 0,25 M Saccharose - 1 mM EDTA Puffer (pH = 7,25) - siehe oben- verwendet. Die Harnstoffkonzentration im Überstand wurde mit der Urease-Berthelod Reaktion bei 546 nm photometrisch bestimmt (Test-Kit der Fa.Boehringer, Mannheim). Dabei wurde der Überstand des Homogenates aus Nierenrinde und äußerem Mark unverdünnt eingesetzt, der Überstand des Homogenates aus innerem Mark 1 : 10 verdünnt. Aqua bidest. und Saccharose - EDTA Puffer hatten als Reagentienleerwert die selben Extinktionswerte. Es konnte daher angenommen werden, daß Saccharose - EDTA Puffer die Extinktionsmessung nicht beeinflusst. Die Dichte des Saccharose - EDTA Puffers unter den Messungsbedingungen wurde durch fünfmaliges Wiegen von 1 ml Saccharose - EDTA Puffer ermittelt.

Der Harnstoffgehalt ist der Quotient aus der in einem Gewebestück enthaltenen Harnstoffmenge und der Gewebemasse m_f . Die Harnstoffmenge wurde aus der Konzentration im Überstand mal Volumen berechnet. Da davon ausgegangen wurde, daß der Harnstoff gleichmäßig in Gewebewasser und zugegebenem Puffer verteilt war, wurde das Volumen aus Gewebewasser plus Puffer berechnet. Das Volumen des Gewebewassers berechnet sich aus Gewebemasse mal Wassergehalt (1 g entspricht 1 ml). Die Masse des Puffers ergibt sich aus der Masse des Homogenates minus Feuchtgewicht des homogenisierten Gewebes; aus dem Quotienten mit der Dichte ergibt sich das Volumen. Der Harnstoffgehalt konnte mit folgender Formel berechnet werden.

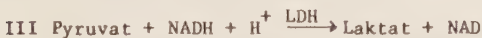
$$G_{\text{Hst}} = \frac{\left(\frac{m_H - m_f}{d_p} + m_f \times G_{\text{H}_2\text{O}} \right) \times C_{\text{Hst}} \times 10^3}{m_f}$$

G_{Hst} = Harnstoffgehalt im Gewebe in mmol/kg, m_H = Masse des Homogenates in g, m_f = Masse des Feuchtgewebes in g, d_p =

Dichte des Puffers in g/ml, G_{H_2O} = Wassergehalt der Gewebeprobe, C_{Hst} = Harnstoffkonzentration im Überstand in mmol (Büttner et al., 1986).

2.4.3 Messung der $(Na^+ + K^+)$ -ATPase - Aktivität

Die maximale Enzymaktivität der $(Na^+ + K^+)$ -ATPase in Nieren- und Herzzellmembranen wurde unter optimalen Bedingungen, d.h. unter Sättigung mit Na^+ und ATP im enzymatisch gekoppelten Test nach Schoner et al. (1967) gemessen. Das Prinzip dieser Messung ist die Oxidation von NADH zu NAD im Verhältnis 1 : 1 zur hydrolytischen Abspaltung von P_a aus ATP durch ATPase. Folgende Reaktionen sind dabei gekoppelt:



Unter Überschuß von ATP entsteht in der ersten Reaktion ADP und P_a in stöchiometrischem Verhältnis. Die Geschwindigkeit der Reaktion ist abhängig von der $(Na^+ + K^+)$ -ATPase - Aktivität. Unter Überschuß von Phosphoenolpyruvat (PEP) und Pyruvatkinase (PK) entstehen in Reaktion II Pyruvat und ATP in Verhältnis zu dem in Reaktion I gebildeten ADP. Das gleiche gilt für die Bildung von NAD^+ und Laktat via LDH aus dem Pyruvat aus Reaktion II und $NADH + H^+$, das im Überschuß zugegeben wird. Die Oxidation von $NADH + H^+$ zu NAD^+ durch LDH ist somit proportional zur Bildung von Pyruvat via ADP und abhängig von der $(Na^+ + K^+)$ -ATPase-Aktivität.

Die NADH-Konzentration kann photometrisch gemessen werden. Die Enzymaktivität errechnet sich:

$$A = \frac{\Delta E \times V}{e \times v}$$

E = Extinktionsänderung pro Minute und cm Küvettenlänge, V = gesamtes Reaktionsvolumen in ml, e = Extinktionskoeffizient in U^{-1} , v = einpipettiertes Enzymvolumen in ml.

Die Extinktionsänderung wurde bei einer Wellenlänge von 334 nm in einem Eppendorphotometer (1101 M) kontinuierlich gemessen und mit Hilfe eines Eppendorf Kompensationsschreibers (6511) aufgezeichnet. Es wurden Glasküvetten mit einer Innenweite von 1 cm verwendet. Die Aktivitätsmessung erfolgte bei 37°C im Überschuß von Mg^{2+} , Na^+ und ATP. Die ATPase-Testlösung enthielt folgende Substanzen: 100mM Imidazol, 150 mM NaCl, 100 mM NH_4Cl , 5 mM $MgCl_2$, 5 mM ATP, 2,5 mM PEP, 0,5 mM NADH, 6 U LDH, 6 U PK. Zur Bestimmung der ATPase-Gesamtaktivität wurden je nach der zu erwartenden Aktivität 50 oder 100 µl Homogenat zu 1,5 ml ATPase-Testlösung gegeben. In einer zweiten Küvette wurde die $(Na^+ + K^+)$ -ATPase durch Zugabe von 0,1 ml $10^{-2}M$ g-Scrophanthinlösung vollständig gehemmt, um die Aktivität der unspezifischen ATPase zu bestimmen. Die Aktivität der $(Na^+ + K^+)$ -ATPase wurde durch Subtraktion der Aktivität der unspezifischen ATPase von der ATPase-Gesamtaktivität ermittelt. Sie ist als Enzymaktivität pro g Feuchtgewebe und als Enzymaktivität pro g Proteingehalt des Homogenates angegeben.

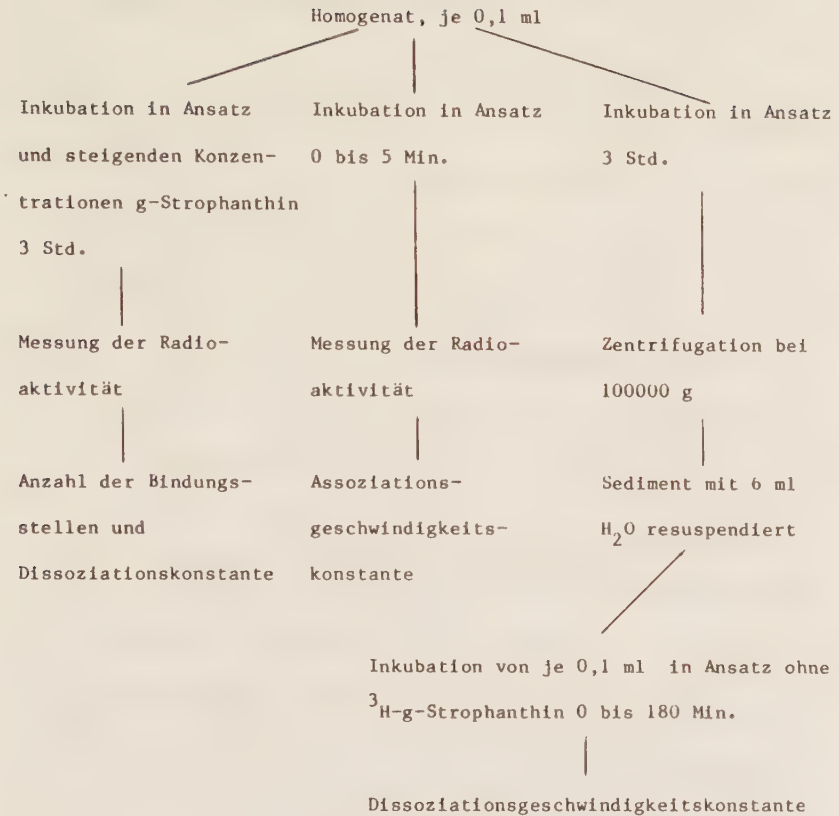


Abbildung 4 Verwendung des Gewebehomogenates: Der Ansatz enthielt ca. $2,2 \times 10^{-9}$ M ³H-g-Strophanthin, 3mM Phosphat, 3 mM Magnesiumchlorid und 50 mM Imidazol. Das Reaktionsvolumen war 2 ml.

2.4.4 Untersuchung der g-Strophanthin-Bindung an Nieren- und Herzzellmembranen

Die Inkubationszeit zur quantitativen Bestimmung der Bindung von g-Strophanthin an die $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ in Nierenzellmembranen wurde nach Aufzeichnung der Bindung von $^3\text{H-g-Strophanthin}$ an Nierenzellmembranen in Abhängigkeit von der Zeit festgelegt. Das Inkubationsmedium für die Bestimmung der zeitabhängigen Bindung, Anzahl der g-Strophanthin-Bindungsstellen, Dissoziationskonstante K_D , Assoziationsgeschwindigkeitskonstante k_{+1} und Dissoziationsgeschwindigkeitskonstante k_{-1} enthielt ca. $2,2 \times 10^{-9} \text{ M } ^3\text{H-g-Strophanthin}$, 3 mM Phosphat (PO_4^{-2}), 3 mM Magnesiumchlorid (MgCl_2) und 50 mM Imidazol. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 0,1 ml Gewebehomogenat gestartet. Das Gesamtvolumen des Reaktionsansatzes betrug 2 ml. Der Reaktionsansatz wurde bei 37°C in Polypropylen-Zentrifugenröhrchen (Fa. Christ, Osterrode/Harz) mit einem Fassungsvermögen von 10 ml inkubiert. In Doppelbestimmungen wurde nach verschiedenen Inkubationszeiten (siehe Abb. 5) die Reaktion gestoppt durch Zugabe von aqua bidest. (0°C) und rasches Filtrieren mit Glasfaserfiltern (Whatman GF/C) unter dem Sog einer Wasserstrahlpumpe. Die Reaktionsgefäße wurden zwei mal mit aqua bidest. gespült. Zur Messung der Radioaktivität wurden die getrockneten Filter (20 min bei 100°C) in Szintillationsröhrchen mit 10 ml Szintillationsflüssigkeit (Quickszint 501, Zinsser Analytic) eingebracht. Nach Abkühlen auf 0°C wurde die Radioaktivität in einem Szintillationszählgerät (Packard Tri-carb 2660) in cpm gemessen. Die Zählzeit pro Röhrchen betrug 4 min.

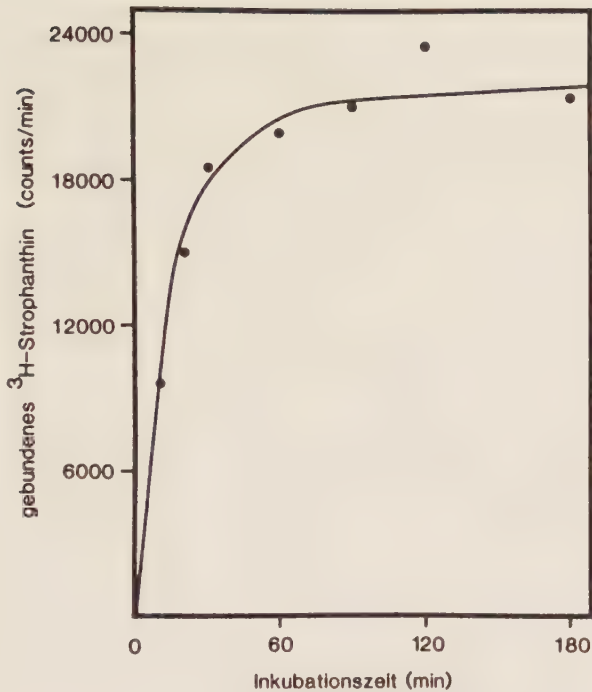


Abb. 5 Bindungskinetik von ^3H -Strophanthin an $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ enthaltende Nierenzellmembranen: Die Radioaktivität des an $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ gebundenen ^3H -Strophanthins ist in Impulsen pro Minute angegeben (Zählzeit 4 min, Doppelbestimmungen). Die Inkubationszeit in 2 ml Reaktionsgemisch ist in Minuten angegeben.

Abbildung 5 zeigt die zeitabhängige Bindung von ^3H -g-Strophanthin an $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$. Nach 60 Minuten fand kein weiterer Anstieg der gebundenen ^3H -g-Strophanthin-Menge statt. Für die nachfolgenden Bestimmungen wurde daher eine Inkubationszeit von 180 Minuten gewählt.

Aus der konzentrationsabhängigen Bindung kann die Dissoziationskonstante (K_D) des g-Strophanthin - $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ -Komplexes sowie die Anzahl der Bindungsstellen

ermittelt werden (Scatchard 1949). Die Bestimmung folgt dem Prinzip, daß die g-Strophanthin-Bindung an die $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ bei steigenden Konzentrationen einer Sättigungskinetik folgt. Trägt man in einem Koordinatensystem die Anzahl der gebundenen g-Strophanthin-Moleküle gegenüber dem Quotienten von gebundenen und freien Molekülen auf ("Scatchard plot", Abb. 6), so ergibt sich eine Gerade, wenn nur eine Art von Rezeptor mit einheitlicher Affinität zum gebundenen Molekül vorhanden ist. Die Steigung entspricht der Dissoziationskonstanten K_D , der Schnittpunkt mit der Ordinate der Anzahl von Bindungsstellen.

Zur Charakterisierung der Rezeptoreigenschaften durch Scatchard plots wurden die Homogenate von Nieren- bzw. Herzgewebe (Kontrollversuche) 3 Stunden bei 37°C in oben beschriebenem Reaktionsgemisch inkubiert. Der Ansatz enthielt zusätzlich steigende Konzentrationen nicht markierten g-Strophanthins (0, 1, 3, 5, 7.5, 10, 20, 30, 40, 60, 100, 200, 400 $\times 10^{-9}\text{M}$). Pro Strophanthinkonzentration wurden zwei Bestimmungen durchgeführt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 0,1 ml Gewebehomogenat gestartet; das Gesamtvolumen betrug 2 ml. Filtermethoden und Messung der Radioaktivität siehe oben. Die unspezifische Bindung wurde bei einer g-Strophanthin-Konzentration von 10^{-3}M dreifach bestimmt. Die Radioaktivität der im Ansatz enthaltenen ^3H -g-Strophanthinmenge wurde ebenfalls drei mal gemessen; der Mittelwert wurde in die Berechnungen eingesetzt.

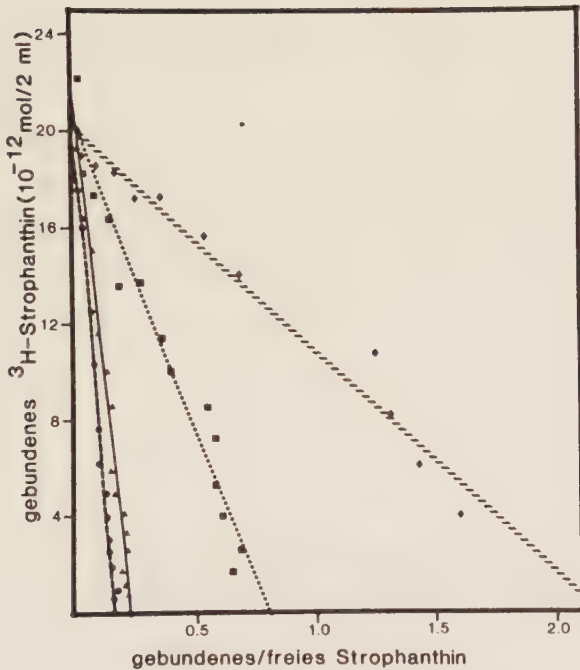


Abb. 6 Scatchard plot der Bindung von ^3H -Strophanthin an $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ -ATPase enthaltende Nierenzellmembranen mit verschiedenen K^+ -Konzentrationen im Inkubationsmedium: Die Menge des an $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ -ATPase gebundenen ^3H -g-Strophanthins bei steigenden Konzentrationen an unmarkiertem Strophanthin in 2 ml Inkubationsmedium ist in 10^{-12} mol angegeben (Zählzeit 4 min, Doppelbestimmungen). Die Inkubationszeit betrug 180 min. An der Abszisse ist das Verhältnis von gebundenem zu freiem Strophanthin angegeben. Die Anzahl der Bindungsstellen beträgt $34,9 \times 10^{14}$ /g. Feuchtgewebe.

◆ = 0 mM K^+ , $K_D = 4,59 \times 10^{-9} \text{ M}^{-1}$ ■ = 1 mM K^+ , $K_D = 1,29 \times 10^{-8} \text{ M}^{-1}$
 ▲ = 2 mM K^+ , $K_D = 4,73 \times 10^{-8} \text{ M}^{-1}$ ● = 3 mM K^+ , $K_D = 6,08 \times 10^{-8} \text{ M}^{-1}$

Die Assoziationsgeschwindigkeit des g-Strophanthin - $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ -ATPase - Komplexes ist proportional zur Konzentration von $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ -ATPase und Strophanthin, und entspricht damit einer Reaktion zweiter Ordnung. Bis zur Besetzung von 10 % der Bindungsstellen kann die Überlagerung der Assoziationsreaktion mit der Dissoziationsreaktion vernachlässigt werden (Abb. 7). Nach der Reaktionsgleichung zweiter Ordnung gilt:

$$\frac{d(AS)}{dt} = k_{+1} (A - AS) (S - AS).$$

Dabei sind $d(AS)$ die Änderung der Konzentration des ^3H -g-Strophanthin- $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ - Komplexes (M) in der Zeit dt (sec), k_{+1} die Assoziationsgeschwindigkeitskonstante, AS die Konzentration des Komplexes zum Zeitpunkt t (M), A die Anfangskonzentration der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ (M) und S die Strophanthinkonzentration zu Beginn der Reaktion (M). Durch Integration ergibt sich für die Assoziationsgeschwindigkeitskonstante

$$k_{+1} = \frac{1}{t \times (A - S)} \ln \frac{S(A - AS)}{A(S - AS)} \quad (\text{Erdmann und Schoner, 1973}).$$

Zur Bestimmung wurde Nierenzellhomogenat 0, 1, 2, 3, 4 und 5 min bei 37°C in dem oben beschriebenen Reaktionsgemisch inkubiert. Die Reaktion wurde mit 0,1 ml Homogenat gestartet. Das gesamte Reaktionsvolumen war 2 ml. Die Konzentration der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ wurde durch einen "Scatchard plot" bestimmt. Die Radioaktivität der Proben, der eingesetzten ^3H -g-Strophanthinmenge und der unspezifischen Bindung wurde wie oben beschrieben bestimmt.

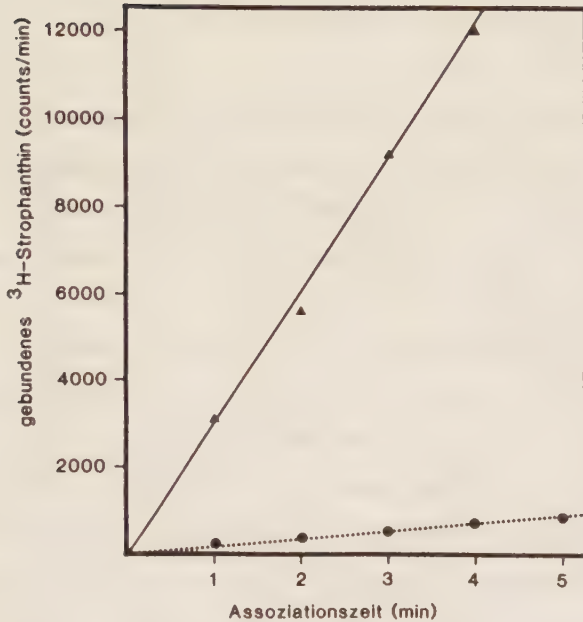


Abb. 7 Assoziationskinetik von ^3H -g-Strophanthin an $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ von Nierenzellhomogenat: Die Radioaktivität des an $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ gebundenen ^3H -g-Strophanthins ist in Impulsen pro Minute angegeben (Zählzeit 4 min, Doppelbestimmungen). Die Konzentration der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ im Inkubationsmedium wurde mit Hilfe eines Scatchard-plots bestimmt und war $14,4 \times 10^{-9} \text{ M}$ im Inkubationsmedium mit 0 mM K^+ und $15,8 \times 10^{-9} \text{ M}$ im Inkubationsmedium mit 3 mM K^+ .
 ▲ = 0 mM K^+ , $k_{+1} = 4,96 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$; ● = 3 mM K^+ , $k_{+1} = 2,14 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$

Die Dissoziationsgeschwindigkeit des g-Strophanthin - $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ - Komplexes ist zur Konzentration proportional und entspricht damit einer Reaktion erster Ordnung. Wird die Rückreaktion durch sofortige Besetzung der freien Bindungsstellen mit unmarkiertem Strophanthin verhindert, so läßt sich der Logarithmus der Konzentration des ^3H -Strophanthin - $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ - Komplexes gegenüber der Zeit als Gerade aufzeichnen (Abb. 8). Die Steigung dieser Geraden entspricht der Dissoziationsgeschwindigkeit. Nach der Formel

$$(SA)_0 = (SA)_t \times e^{-(k-1) \times t}$$

$$k_{-1} = \frac{\ln(SA)_0 - \ln(SA)_t}{t}$$

läßt sich k_{-1} errechnen (Erdmann und Schoner, 1973). Dabei sind $(SA)_0$ die Konzentration des 3H -Strophanthin - $(Na^+ + K^+)$ -ATPase-Komplexes zu Beginn der Reaktion, $(SA)_t$ die Konzentration des 3H -Strophanthin - $(Na^+ + K^+)$ -ATPase-Komplexes zum Zeitpunkt t und k_{-1} die Dissoziationsgeschwindigkeitskonstante.

Zur Bildung des 3H -Strophanthin - $(Na^+ + K^+)$ -ATPase-Komplexes wurden 3,5 ml Homogenat in dem oben beschriebenen Ansatz (Gesamtvolumen 6 ml) 3 Stunden bei $37^\circ C$ inkubiert. Das Homogenat mit dem 3H -g-Strophanthin - $(Na^+ + K^+)$ -ATPase-Komplex wurde 15 min bei 100'000 g zentrifugiert. Das Sediment wurde mit 6 ml aqua bidest. resuspendiert. 0,2 ml des Homogenates mit 3H -Strophanthin - $(Na^+ + K^+)$ -ATPase-Komplex wurden unterschiedliche Zeiten (0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 75, 90, 120, 150, 180 min) bei $37^\circ C$ inkubiert. Das Reaktionsgemisch enthielt die üblichen Substanzen außer 3H -g-Strophanthin und zusätzlich 1 mM unmarkiertes g-Strophanthin. Die Radioaktivität war proportional zur Menge des nicht dissoziierten 3H -Strophanthin - $(Na^+ + K^+)$ -ATPase-Komplexes und wurde wie oben gemessen. Die unspezifische Bindung wurde subtrahiert.

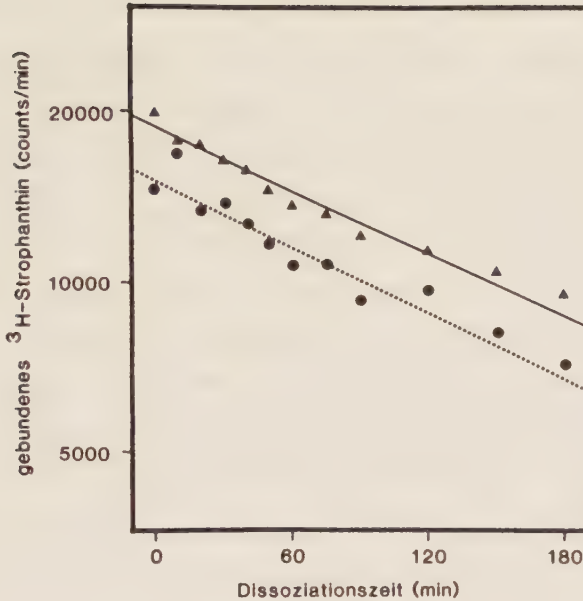


Abb. 8 Dissoziationskinetik von ^3H -g-Strophanthin von $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ in Nierenzellhomogenat: Die Radioaktivität des an $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ gebundenen ^3H -Strophanthins wurde logarithmisch aufgetragen. Die Rückreaktion wurde durch einen Überschuß an nicht markiertem g-Strophanthin verhindert. $\Delta = 0 \text{ mM } \text{K}^+$, $k_{-1} = 1,09 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$; $\bullet = 3 \text{ mM } \text{K}^+$, $k_{-1} = 1,04 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$.

Zur Analyse der Bedeutung von K^+ auf die Dissoziationskonstante und die Anzahl der Bindungsstellen von g-Strophanthin an $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ wurden Scatchard plots mit 0, 1, 2 und 3 mM K^+ im Reaktionsgemisch angelegt (Abb. 6). Zur Bestimmung des Einflusses von K^+ auf die kinetischen Konstanten wurden k_{+1} und k_{-1} mit 0 und 3 mM K^+ im Inkubationsmedium gemessen (Abb. 8 und 9). K^+ erhöhte die Dissoziationskonstante K_D (mit $\text{K}^+ = 0 \text{ mmol/l}$ $K_D = 4,59 \times 10^{-9} \text{ M}^{-1}$, mit $\text{K}^+ = 1 \text{ mmol/l}$ $K_D = 1,29 \times 10^{-8} \text{ M}^{-1}$, mit $\text{K}^+ = 2 \text{ mmol/l}$ $K_D = 4,73 \times 10^{-8} \text{ M}^{-1}$, mit $\text{K}^+ 3 \text{ mmol/l}$ $K_D = 6,08 \times 10^{-8} \text{ M}^{-1}$), ohne die Anzahl der Bindungs-

stellen zu beeinflussen ($34,9 \times 10^{14}$ /g Feuchtgewebe). Die Veränderung von K_D wurde vornehmlich durch eine Veränderung der Assoziationsgeschwindigkeitskonstante, k_{+1} (mit $K^+ = 0$ mmol/l $k_{+1} = 4,96 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, mit $K^+ = 3$ mmol/l $k_{+1} = 2,14 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$), ohne eine Veränderung der Dissoziationsgeschwindigkeitskonstante, k_{-1} (mit $K^+ = 0$ mmol/l $k_{-1} = 1,09 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ mit $K^+ = 3$ mmol/l $k_{-1} = 1,04 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$) verursacht. Die K^+ -Konzentration im Inkubationsmedium wurde in allen Versuchen gemessen und war stets geringer als 0,2 mM.

Die Umsatzrate eines Enzyms ist die Stoffmenge eines Substrates, mit der ein Enzymmolekül pro Zeiteinheit reagiert. Dividiert man die Enzymaktivität (Benennung aufgelöst: $1\text{U} = 10^{-6} \text{ mol} \times \text{min}^{-1}$) durch die Anzahl der Enzymmoleküle ($6,023 \times 10^{23} = 1 \text{ mol}$), so erhält man die Umsatzrate in min^{-1} . Die Enzymaktivität der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ ist angegeben als die Menge ATP, die unter optimalen Bedingungen (Sättigung von Mg^{2+} , Na^+ und ATP, 37°C) hydrolysiert wird. Als Anzahl der Enzymmoleküle wurde die Anzahl der $^3\text{H-g-Strophanthin}$ - Bindungsstellen angenommen und in Mol umgerechnet (siehe oben).

2.5 Statistik

Mittelwerte von mehr als 3 Einzelmessungen wurden als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung angegeben. Statistische Vergleiche wurden mit Hilfe des Students T-Test für unverbundene (wenn nicht anders erwähnt) bzw. verbundene Stichproben durchgeführt. p-Werte kleiner als 0.05 galten als statistisch signifikant.

3. Ergebnisse

3.1 PAH-Clearance

Die PAH-Clearance ist mit einem Mittelwert aus allen Messungen vor Anlegen der Harnstauung von $3,12 \pm 0,69$ ml/min x kg in guter Übereinstimmung mit der Literatur. Aperia et al. (1982) fanden eine PAH-Clearance von 3,5 ml/min x kg. Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgruppen waren vor Anlegen der Harnstauung nicht signifikant. Nach einwöchiger Harnstauung ($n = 7$) war die PAH-Clearance von $3,01 \pm 0,56$ ml/min x kg auf $0,23 \pm 0,19$ ml/min x kg signifikant ($p < 0,001$) erniedrigt. Am 10. Tag nach Wiederherstellung des Harnabflusses fand sich ein Wiederanstieg auf $2,09 \pm 1,08$ ml/min x kg ($p < 0,001$). Am 56. Tag war die PAH-Clearance $2,09 \pm 0,59$ ml/min x kg, und statistisch signifikant niedriger als vor Anlegen der Harnstauung ($p < 0,001$). Nach zweiwöchiger Harnstauung ($n = 5$) fiel die PAH-Clearance von $3,07 \pm 0,57$ ml/min x kg auf $0,12 \pm 0,13$ ml/min x kg ab ($p < 0,001$). Die Verminderung der PAH-Clearance nach dieser Zeit unterschied sich jedoch nicht signifikant von dem Befund nach einwöchiger Harnstauung. Am 28. Tag nach Beseitigung der Harnstauung fand sich ein signifikanter ($p < 0,001$) Wiederanstieg auf $1,63 \pm 0,59$ ml/min x kg. Am 84. Tag hatte sich die PAH-Clearance mit $1,70 \pm 1,13$ ml/min x kg jedoch nicht weiter erholt. Drei Wochen nach Unterbindung des Harnleiters war die PAH-Clearance von $3,68 \pm 0,84$ ml/min x kg auf $0,07 \pm 0,07$ ml/min x kg signifikant vermindert ($p < 0,001$; $n = 5$). Dieser Wert ist nicht signifikant niedriger als nach einwöchiger Harnstauung. Innerhalb von 28 Tagen nach Aufhebung der Harnstauung stieg die PAH-Clearance auf $0,40 \pm 0,18$ ml/min x kg ($p = 0,002$). Am 84. Tag der Erholungsphase war sie mit $0,51 \pm 0,23$ ml/min

x kg (n = 4) nicht signifikant höher. Nach vierwöchiger Obstruktion (n = 5) war die PAH-Clearance von $2,78 \pm 0,65$ ml/min x kg auf $0,04 \pm 0,06$ ml/min x kg statistisch signifikant ($p < 0,001$) reduziert. Dieser Wert war sogar signifikant ($p = 0,039$) niedriger als nach einwöchiger Harnstauung, jedoch nicht signifikant niedriger als nach zwei- oder dreiwöchiger Harnstauung. In dieser Versuchsgruppe mit vierwöchiger Ureterobstruktion fand sich im Gegensatz zu den anderen Gruppen keine Erholung der PAH-Clearance nach Beseitigung der Abflußblockade. Unterschiede in der Erholung der PAH-Clearance waren nach ein- und zweiwöchiger sowie nach zwei- und dreiwöchiger Harnstauung nicht signifikant (Abb. 9).

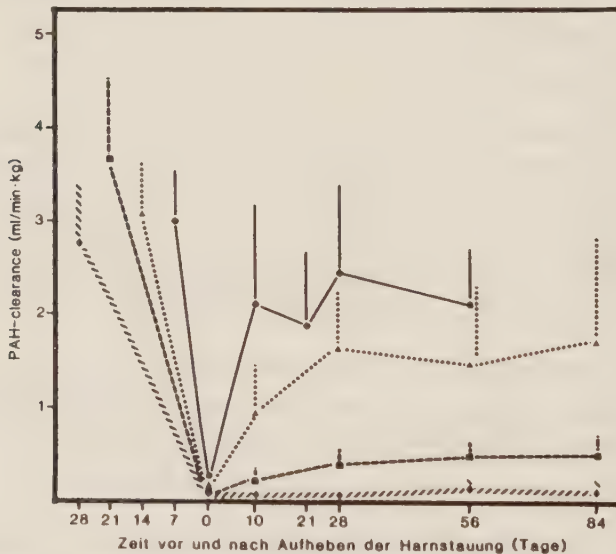


Abb. 9 PAH-Clearance vor und nach ein- bis vierwöchiger Harnstauung: Die PAH-Clearance ist als ml pro min und kg Körpergewicht angegeben. Die Beseitigung der Harnstauung erfolgte am Tag 0. ● = einwöchige Harnstauung (n = 7) ▲ = zweiwöchige Harnstauung (n = 5) ■ = dreiwöchige Harnstauung (n = 5) ◆ = vierwöchige Harnstauung (n = 5). Folgende Befunde sind signifikant unterschiedlich. 1. Vor und bei Aufheben der Harnstauung in allen Gruppen ($p < 0,001$). 2. Bei Aufheben und 10 Tage nach Aufheben der einwöchigen Harnstauung ($p < 0,001$). 3. Bei Aufheben und 28 Tage nach Aufheben der zwei- und dreiwöchigen Harnstauung ($p \leq 0,012$).

Die renale Extraktion von PAH wurde stichprobenartig in den verschiedenen Versuchsgruppen gemessen. Die Ergebnisse sind in Tab. 1 wiedergegeben. Die Kontrollwerte (rechts = $0,57 \pm 0,08$; links = $0,57 \pm 0,10$) liegen deutlich unter denen, die von anderen Autoren gefunden wurden (Ferriere, 1971; Yarzer, 1974: $E_{PAH} \approx 0,8$). Mit zunehmender Dauer der Harnstauung nahm die PAH-Extraktion bei Beseitigung der Harnstauung ab. Die Erholung der PAH-Extraktion nahm mit zunehmender Dauer der Harnstauung ab (Tab. 1).

Dauer der Harnstauung	Dauer der Erholungsphase	n	gestaute Niere	kontralaterale Niere
0	0	4	$0,57 \pm 0,08$	$0,57 \pm 0,08$
7	0	2	0,39	0,48
7	56	1	0,54	0,67
14	0	2	0,21	0,52
14	84	3	0,55	0,57
21	0	2	0,16	0,76
21	84	2	0,30	0,68
28	0	1	0,07	0,71
28	84	1	0,22	0,51

Tab. 1. Renale Extrak-tion von PAH. Die Konzentration von PAH wurde im Harnvenens Blut (Intraoperative Funktion) und im arteriellen Blut bestimmt.

3.2 Inulin-Clearance

Die Veränderungen der PAH- und Inulin-Clearance verliefen parallel. Es konnten keine signifikanten Unterschiede der Quotienten von PAH- / Inulin-Clearance zwischen den Versuchsgruppen an irgendeinem beliebigen Messtag gefunden werden. Der höchste Wert fand sich nach zwei Wochen Stauung ohne Erholungsphase und betrug $0,54 \pm 0,18$, der niedrigste Wert fand sich nach drei Wochen Stauung und 84 Tagen Erholungsphase und betrug $0,34 \pm 0,16$. Der Unterschied ist statistisch nicht signifikant.

Auch die Ausgangswerte der Inulin-Clearance sind mit einem Mittelwert von $1,40 \pm 0,46$ ml/min x kg in guter Übereinstimmung mit der Literatur. Aperia et al. (1982) fanden eine Inulin-Clearance von $1,54$ ml/min x kg. Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgruppen waren vor Anlegen der Harnstauung nicht signifikant. Nach einwöchiger Harnstauung fiel die Inulin-Clearance von $1,37 \pm 0,41$ ml/min x kg auf $0,12 \pm 0,13$ ml/min x kg ab ($n = 7$; $p < 0,001$). Am 10. Tag nach Aufhebung der Harnstauung fand sich ein signifikanter ($p < 0,001$) Wiederanstieg auf $0,87 \pm 0,36$ ml/min x kg. Am 56. Tag war die Inulin-Clearance mit $0,92 \pm 0,29$ nicht signifikant besser, jedoch immer noch niedriger ($p = 0,035$) als unter Kontrollbedingungen. Zwei Wochen nach Ureterligatur war die Inulin-Clearance von $1,68 \pm 0,34$ ml/min x kg auf $0,06 \pm 0,11$ ml/min x kg reduziert ($n = 5$; $p < 0,001$). Dieser Wert ist jedoch nicht signifikant niedriger als nach einwöchiger Harnstauung. Am 28. Tag nach Wiederherstellung des Harnabflusses fand sich eine signifikante Erholung auf $0,64 \pm 0,30$ ml/min x kg ($p = 0,002$; $n = 4$). Am 84. Tag war mit $0,73 \pm 0,59$ ml/min x kg ($n = 3$) keine signifikante Verbesserung zu beobachten. Dreiwöchige vollständige Harnstauung verursachte eine Verringerung der.

Inulin-Clearance von $1,34 \pm 0,69$ ml/min x kg auf $0,02 \pm 0,04$ ml/min x kg ($n = 5$; $p < 0,001$). Dieser Wert lag jedoch nicht unter dem Ergebnis nach einwöchiger Harnstauung. Am 28. Tag nach Wiederherstellung freier Abflußverhältnisse fand sich zwar eine signifikante Erholung ($p = 0,01$) auf $0,15 \pm 0,05$ ml/min x kg, die sich jedoch im weiteren Verlauf bis zum 84. Tag nicht wesentlich bessern konnte ($0,20 \pm 0,18$ ml/min x kg; $n = 4$). Nach vierwöchiger Ureterligatur ($n = 5$) war die Inulin-Clearance von $1,23 \pm 0,33$ ml/min x kg auf $0,03 \pm 0,03$ ml/min x kg signifikant ($p < 0,001$) und irreversibel vermindert, denn bis zum 84. Tag nach Beseitigung der Obstruktion konnte keine Erholung der Inulin-Clearance festgestellt werden. Signifikante Unterschiede in der Inulin-Clearance am Ende der Erholungsphase fanden sich nur in der Gruppe mit einwöchiger und den drei- oder vierwöchiger Stauung (Abb. 10).

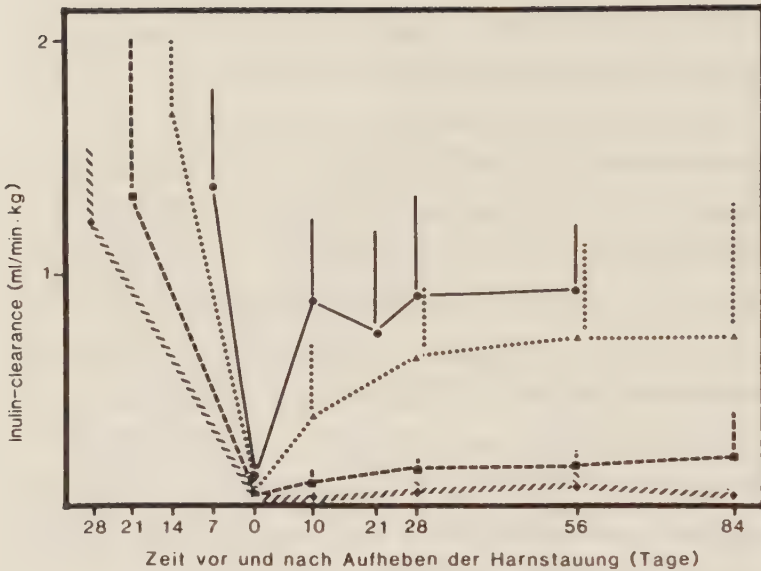


Abb.10 Inulin-Clearance vor und nach ein- bis vierwöchiger Harnstauung: Die Inulin-Clearance ist in ml pro min, dividiert durch das Körpergewicht am Tag vor Anlegen der Harnstauung angegeben. Die Zeit ist in Tagen vor und nach Aufheben der Harnstauung (0) angegeben. ● = einwöchige Harnstauung (n = 7) ▲ = zweiwöchige Harnstauung (n = 5) ■ = dreiwöchige Harnstauung (n = 5) ◆ = vierwöchige Harnstauung (n = 5). Signifikante Unterschiede fanden sich zwischen folgenden Punkten: 1. Vor und bei Aufheben der Harnstauung in allen Gruppen ($p < 0,001$), 2. Bei Aufheben und 10 Tage nach Aufheben der einwöchigen Harnstauung ($p < 0,001$), 3. Bei Aufheben und 28 Tage nach Aufheben der zwei- und dreiwöchigen Harnstauung ($p \leq 0,002$), 4. Nach Abschluß der Erholungsphase zwischen einwöchiger und drei- und vierwöchiger Harnstauung. Unterschiede waren nicht signifikant: 1. Vor Anlegen der Harnstauung, 2. Nach 10-tägiger Erholungsphase nach einwöchiger Harnstauung, 3. Nach 28-tägiger Erholungsphase nach zwei- und dreiwöchiger Harnstauung, 4. Nach vierwöchiger Harnstauung.

3.3 Na^+ -Konzentrationen in Urin und Plasma

Die Quotienten aus den Na^+ -Konzentrationen im Urin dividiert und Plasma sind in Abb. 11 bis 14 wiedergegeben. In den über verschiedene Zeiträume gestauten Nieren ergab sich zu keinem Zeitpunkt der Messung ein signifikanter Unterschied zum Ausgangswert vor Anlegen der Harnstauung. Zusammengefaßt ergeben die Quotienten einen Mittelwert von $2,25 \pm 1,23$.

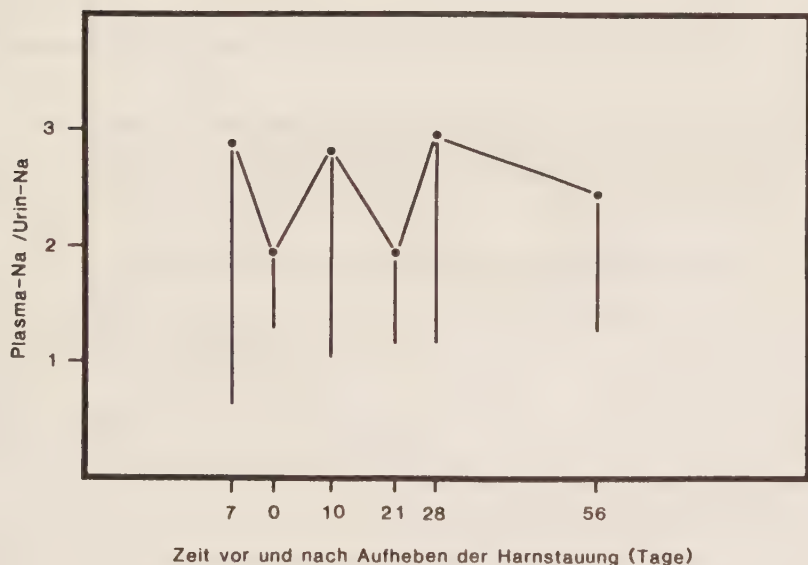


Abb. 11 Na^+ -Konzentrationsquotienten aus Urin und Plasma nach einwöchiger Harnstauung: An den verschiedenen Messtagen fand sich kein signifikanter Unterschied zum Ausgangswert ($n = 7$).

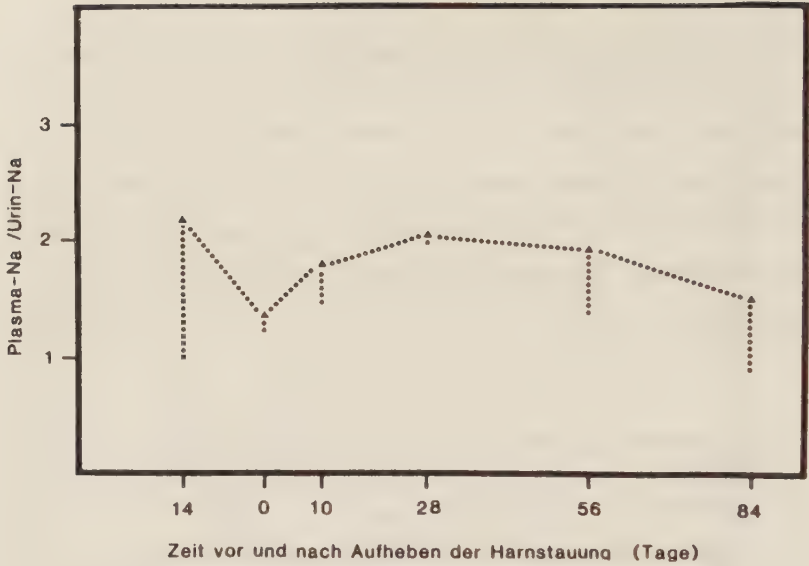


Abb. 12 Na^+ -Konzentrationsquotienten aus Urin und Plasma nach zweiwöchiger Ureterokklusion. Die Veränderungen im Verlauf sind nicht signifikant ($n = 5$).

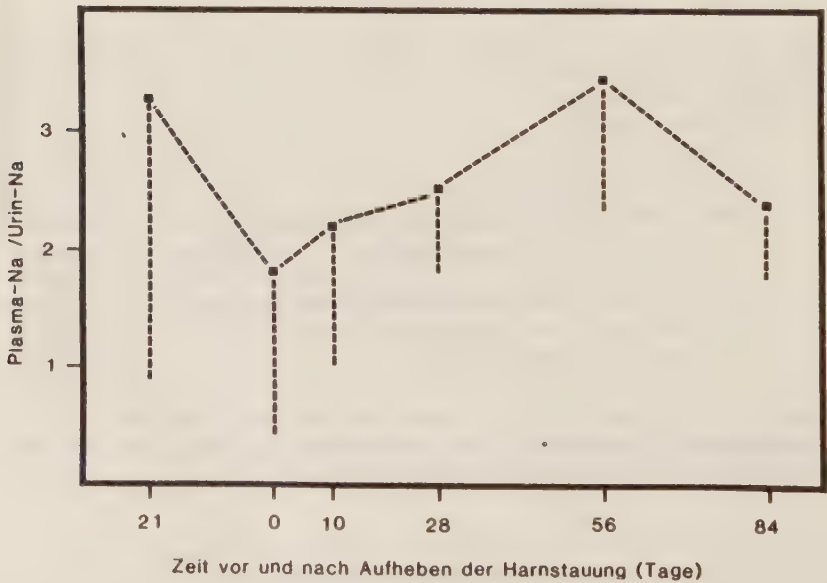


Abb. 13 Na^+ -Konzentrationsquotienten aus Urin und Plasma nach dreiwöchiger Harnstauung. Es lassen sich keine signifikanten Veränderungen erkennen. ($n = 5$).

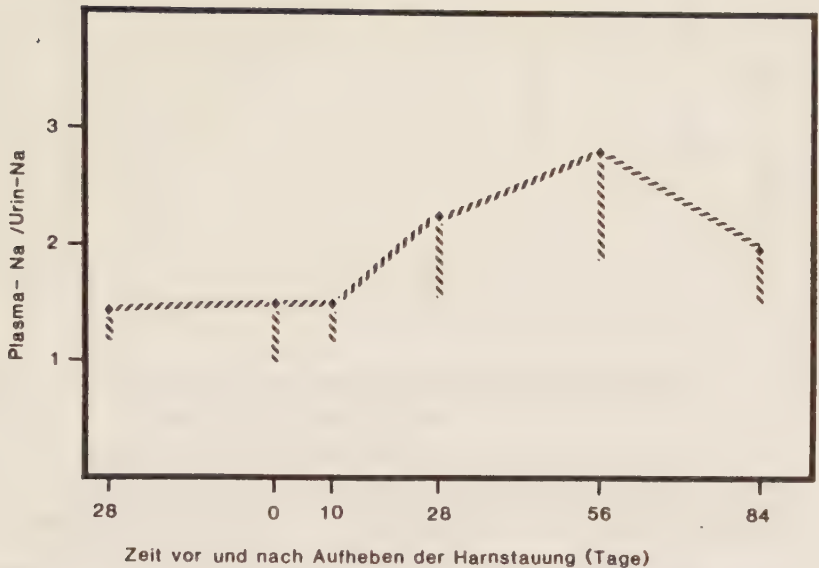


Abb. 14 Na^+ -Konzentrationsquotienten in Urin und Plasma nach vierwöchiger Ureterligatur. Wie in den anderen Gruppen wurden keine signifikanten Veränderungen entdeckt ($n = 5$).

3.4 K^+ -Konzentration im Urin

Die K^+ -Konzentrationen im Urin vor und nach ein- bis vierwöchiger Ureterokklusion sind in Abb. 15 bis 18 wiedergegeben. Der Mittelwert aller Ausgangswerte betrug $75,5 \pm 36,9$ mmol/l, Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen waren nicht statistisch signifikant. Nach Beendigung der Harnstauung waren die K^+ -Konzentrationen im Urin signifikant ($p < 0,002$) erniedrigt (K^+ -Konzentration nach Harnstauung $20,0 \pm 19,6$ mmol/l im Mittel). Es fanden sich jedoch keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Stauungsperioden nach Aufheben der Harnstauung.

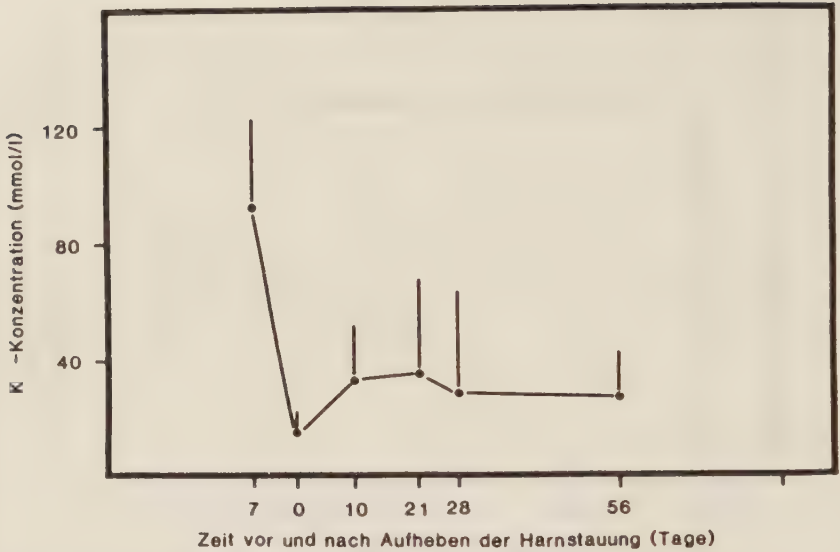


Abb. K^+ -Konzentrationen im Urin nach einwöchiger Ureterokklusion. Nach Aufheben der Harnstauung war die K^+ -Konzentration signifikant erniedrigt ($p < 0,001$). Der Wiederanstieg war nicht signifikant.

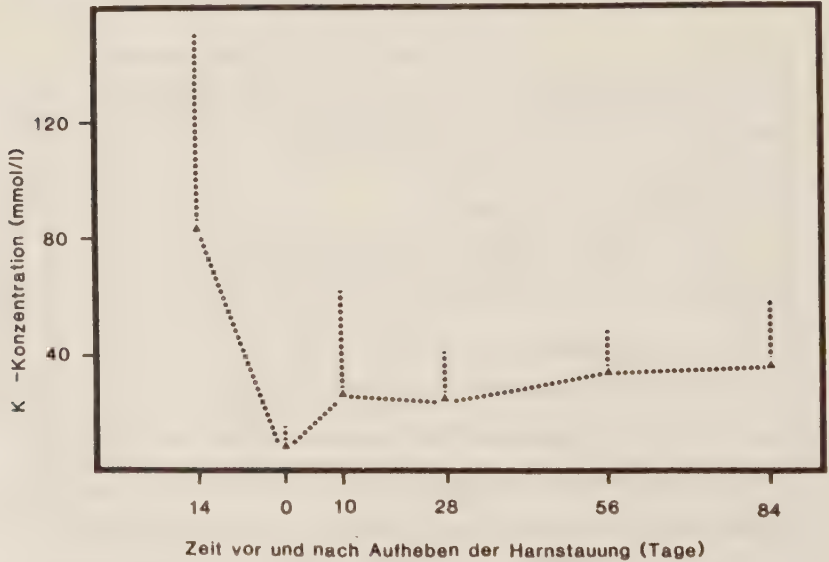


Abb. 16 K^+ -Konzentration im Urin nach zweiwöchiger Harnstauung. Auch hier findet kein signifikanter Wiederanstieg statt.

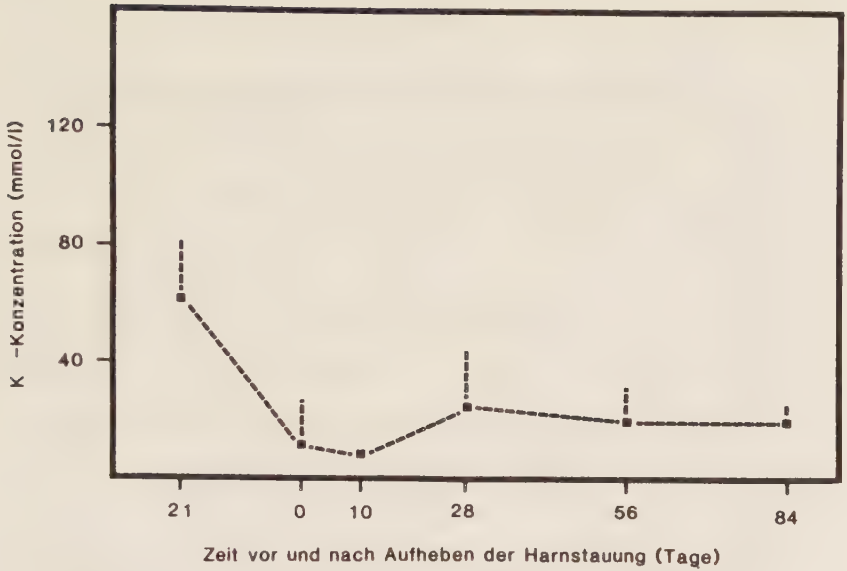


Abb. 17 K^+ -Konzentrationen im Urin nach dreiwöchiger Ureterligatur. Trotz Wiederherstellung der Abflußverhältnisse blieb die K^+ -Konzentration irreversibel erniedrigt ($p < 0,001$).

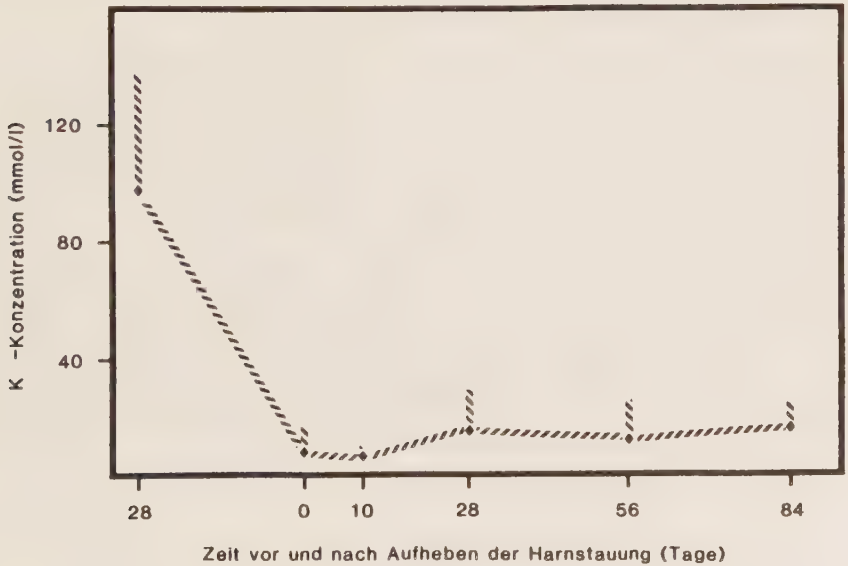


Abb. 18 K^+ -Konzentration im Urin nach vierwöchig geschädigter Niere: Die K^+ -Konzentration ist signifikant und irreversibel vermindert.

3.5 Urin-Osmolalität

Die Urin-Osmolalität, die jeweils nach 20-stündiger Wasser- und Nahrungskarenz bestimmt wurde, vor und nach Harnstauung ist in Abbildung 20 wiedergegeben. Der Kontrollwert (Mittel aller Werte vor Harnstauung) betrug 1093 ± 290 mosm/l. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen sind nicht signifikant. Akut bei Aufhebung der Harnstauung war die Urin-Osmolalität in allen Gruppen auf 329 ± 28 mosm/l erniedrigt ($p < 0,001$, $n = 17$). Die einzelnen Versuchsgruppen erlebten eine unterschiedliche Erholung der Konzentrationsfähigkeit in Abhängigkeit zur Dauer der Okklusion. Nach einwöchigem Harnleiterverschluß und 56 Tagen Erholung betrug die Urin-Osmolalität 1037 ± 195 mosm/l, und lag damit im Bereich des Kontrollwertes. Nach 28 Tagen einer zweiwöchigen Okklusion war die Urin-Osmolalität mit 561 ± 80 mosm/l ($n = 4$) signifikant ($p < 0,001$) höher als akut bei Beseitigung der Harnstauung. Der Unterschied 28 und 84 Tagen Erholung war nicht signifikant. Auch nach einer dreiwöchigen Unterbindung des Harnabflusses fand sich 28 Tage später ein signifikanter ($p = 0,04$) Wiederanstieg der Urin-Osmolalität auf 440 ± 88 mosm/l. Es bestehen keine Unterschiede zwischen 28 und 84 Tagen nach Aufheben der Harnstauung. Nach vierwöchiger Harnstauung fand hingegen überhaupt keine Erholung der Konzentrationsfähigkeit statt. Zwischen der zwei- und dreiwöchig, bzw. zwischen der drei und vierwöchig gestauten Gruppe unterschied sich die Erholung der Konzentrationsfähigkeit auch nach 84 Tagen nicht signifikant (Abb. 20).

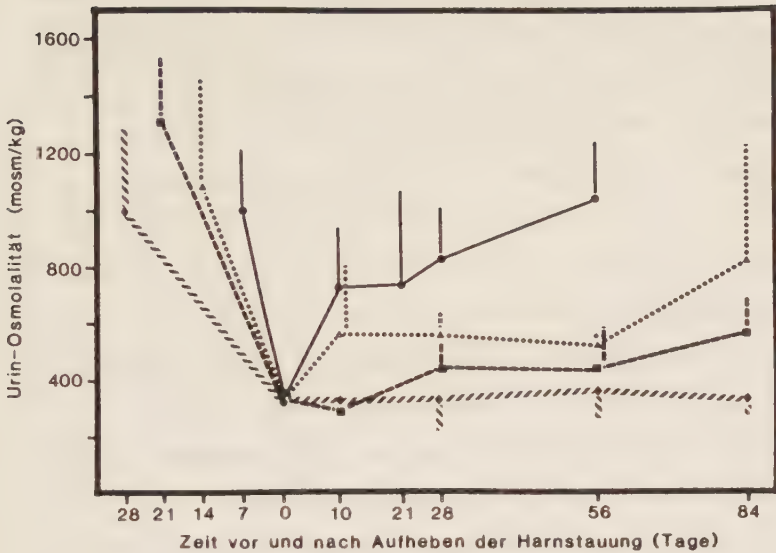


Abb. 19 Urin-Osmolalität vor und nach ein- bis vierwöchiger Harnstauung. Die Urin-Osmolalität ist in mosm/kg angegeben. Die Zeit ist in Tagen vor und nach Aufheben der Harnstauung (0) angegeben.
 ● = einwöchige Harnstauung (n = 7), ▲ = zweiwöchige Harnstauung (n = 5), ■ = dreiwöchige Harnstauung (n = 5), ◆ = vierwöchige Harnstauung (n = 5).
 Signifikante Unterschiede der Osmolalität fanden sich zu folgenden Zeitpunkten: 1. In allen Gruppen vor und bei Aufheben der Harnstauung ($p < 0,001$), 2. akut und 10 Tage nach Aufheben der einwöchigen Harnstauung ($p < 0,001$), 3. akut und 28 Tage nach Aufheben der zwei- und dreiwöchigen Harnstauung ($p < 0,002$ bzw. $p = 0,04$). Unterschiede der Osmolalität waren hingegen nicht signifikant: 1. zwischen den Kontrollwerten der verschiedenen Gruppen, 2. zwischen dem Kontrollwert und Abschluß der Erholung nach einwöchiger Harnstauung, 3. nach 28 Tagen Erholung bei zwei- und dreiwöchiger Harnstauung, 4. nach vierwöchiger Harnstauung gegenüber den Kontrollwerten, 5. Nach Abschluß der Erholungsphase zwischen zwei- und dreiwöchiger, sowie zwischen drei- und vierwöchiger Harnstauung.

3.6 Osmotisch aktive Substanzen im Nierengewebe

Der Gehalt der wichtigsten osmotisch aktiven Substanzen in der Nierenrinde, innerem und äusserem Mark von normalen, gestauten und kontralateralen Nieren mit und Erholung ist in Tab. 2 bis 4 wiedergegeben. Der K^+ -Gehalt war in Rinde, äusserem und innerem Nierenmark gleich groß und wurde durch die Harnstauung nicht statistisch signifikant verändert. In allen Nieren fand sich ein Gradient der Na^+ -Gehalte vom inneren Mark zur Rinde. In der Rinde und dem äußeren Mark der gestauten Nieren war der Na^+ -Gehalt jeweils gleich groß wie im entsprechenden Bereich der gegenseitigen Niere; es fand sich kein Unterschied im gepaarten t-Test. Der Na^+ -Gehalt des inneren Marks hingegen war nach Harnstauung in den hydronephrotischen Nieren signifikant niedriger als auf der Gegenseite; hier war der Unterschied im ungepaartent-Test signifikant. Entsprechend zur normalen Funktion der Niere (siehe Diskussion) zeigte auch der Harnstoffgehalt einen Gradienten vom inneren Mark zur Rinde.

Tab. 2 K^+ -Gehalt im Nierengewebe: Die K^+ -Konzentration wurde nach Aufschluß des Trockengewebes mit H_2O_2 und Salpetersäure flammenphotometrisch im Überstand gemessen, und wurde auf mmol/kg Feuchtgewebe rückgerechnet. CR = gestaute Rinde, CL = kontralaterale Rinde, ÄMR = gestautes äußeres Mark, ÄML = kontralaterales äußeres Mark, IMR = gestautes inneres Mark, IML = kontralaterales inneres Mark

Hund Nummer	Dauer der Harnstauung	Dauer der Erholungsphase	CR	ÄMR	IMR	CL	ÄML	IML
14	7	0	56	37	38	68	63	55
71	7	56	57	49	42	65	50	31
432	7	56	48	47	37	55	41	47
76	14	0	65	51	40	74	55	42
456	14	84	62	61	28	58	43	30
480	14	84	63	32	36	67	57	42
13	21	0	38	32	18	54	39	16
447	21	84	56	46	48	67	59	44
448	21	84	45	48	44	56	50	33
19	28	0	50	46	34	69	52	42
433	28	84	44	57	53	68	35	34

Tab. 3 Na⁺-Gehalt im Nierengewebe: Die Na⁺-Konzentration wurde nach Aufschluß des Trockengewebes mit H₂O₂ und Salpetersäure flammenphotometrisch im Überstand gemessen, und wurde auf mmol/kg Feuchtgewebe rückgerechnet. CR = gestaute Rinde, CL = kontralaterale Rinde, ÄMR = gestautes äußeres Mark, ÄML = kontralaterales äußeres Mark, IMR = gestautes inneres Mark, IML = kontralaterales inneres Mark.

Hund Nummer	Dauer der Harnstauung	Dauer der Erholungsphase	CR	ÄMR	IMR	CL	ÄML	IML
14	7	0	53	75	66	81	130	125
71	7	56	62	73	96	49	68	101
432	7	56	91	97	116	68	48	158
76	14	0	64	75	86	54	90	157
456	14	84	54	61	85	62	72	88
480	14	84	65	100	91	52	73	110
13	21	0	43	66	79	92	89	115
447	21	84	80	111	118	54	96	162
448	21	84	64	76	118	52	91	118
19	28	0	65	79	84	68	66	120
433	28	84	71	64	56	58	76	109

Tab. 4 Harnstoff-Gehalt im Nierengewebe: Die Harnstoffkonzentration wurde im Überstand des in 0,25M Saccharose - 1mM EDTA - Puffer homogenisierten Nierengewebe gemessen und wurde auf mmol/kg Feuchtgewebe rückgerechnet. CR = gestaute Rinde, CL = kontralaterale Rinde, AMR = gestautes äußeres Mark, AML = kontralaterales äußeres Mark, IMR = gestautes inneres Mark, IML = kontralaterales inneres Mark.

Hund Nummer	Dauer der Harnstauung	Dauer der Erholungsphase	CR	ÄMR	IMR	CL	AML	IML
14	7	0	149	98	142	238	1050	1650
71	7	56	186	283	514	204	574	799
76	14	0	92	81	108	144	479	1265
456	14	84	149	147	171	66	1563	612
480	14	84	236	436	887	179	652	238
13	21	0	130	119	148	181	235	570
442	21	84	204	224	414	294	417	915
447	21	84	184	158	390	210	625	1744
448	21	84	141	155	138	241	702	1795
23	21	84	155	198	73	287	561	1907
24	21	84	131	150	193	255	614	801

3.7 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase

Kontrollwerte für verschiedene Eigenschaften der ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase wurden von Herzgewebe und beidseitig gesunden Nieren gewonnen. Die Aktivität der ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase ist in Tab. 5 und 6 wiedergegeben. Die ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase-Aktivität im normalen Nierengewebe (Rinde: $9,5 \pm 2,4$ U/g Feuchtgewebe, Mark: $13,6 \pm 3,1$ U/g Feuchtgewebe) war signifikant ($p < 0,001$) höher als im Herzgewebe (linker Ventrikel: $1,4 \pm 0,6$ U/g Feuchtgewebe, rechter Ventrikel: $1,0 \pm 0,6$ U/g Feuchtgewebe). Zwischen rechtem und linkem Ventrikel fand sich kein signifikanter Unterschied. Wie bereits von Hendler et al. (1969, 1971) und Jorgensen (1982) gefunden, war die ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase-Aktivität auch in diesen Untersuchungen im äusseren Mark signifikant ($p < 0,001$) höher als in der Rinde.

Scatchard plots (Abb. 15) waren in allen untersuchten Gewebeproben linear, d.h. die g-Strophanthin-Bindung erfolgte stets an Rezeptoren mit einheitlicher Affinität. Kontrollwerte für die Anzahl Bindungsstellen in Niere und Herz sind in Tab. 5 und 6 wiedergegeben. Analog zur ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase-Aktivität ist die Anzahl der g-Strophanthin-Bindungsstellen im Nierengewebe (Rinde: $13,0 \pm 4,7 \times 10^{14}$ /g Feuchtgewebe, Mark: $24,2 \pm 8,4 \times 10^{14}$ /g Feuchtgewebe) signifikant ($p < 0,001$) höher als im Herzgewebe (rechter Ventrikel: $1,2 \pm 0,3 \times 10^{14}$ /g Feuchtgewebe, linker Ventrikel: $1,3 \pm 0,3 \times 10^{14}$ /g Feuchtgewebe). Zwischen rechtem und linkem Ventrikel fanden sich keine signifikanten Unterschiede. Die Anzahl der Bindungsstellen im äusseren Nierenmark ist signifikant ($p < 0,001$) höher als in der Rinde. Die Werte der Dissoziationskonstante K_D , der Assoziationsgeschwindigkeitskonstante k_{+1} , sowie der Dissoziationsgeschwindigkeitskonstante k_{-1} , in den gestauten, bzw.

kontralateralen Nieren lagen jeweils in einer Grössenordnung, so dass alle gestauten und alle kontralateralen Nieren zu je einer Gruppe zusammengefaßt werden konnten. Die Ergebnisse sind in Tab. 5 und 6 wiedergegeben. Die K_D änderte sich nur in Rinde und Mark der kontralateralen Nieren (normale Nieren: Rinde = $3,34 \pm 0,40 \times 10^{-9} M$, äußeres Mark = $3,85 \pm 0,91 \times 10^{-9} M$; kontralaterale Nieren: Rinde = $5,11 \pm 0,33 \times 10^{-9} M$, äußeres Mark = $7,05 \pm 0,44 \times 10^{-9} M$). Veränderungen der kinetischen Konstanten k_{+1} und k_{-1} wurden bei der geringen Anzahl von Messergebnissen als nicht reproduzierbar gewertet. Die Umsatzrate des $(Na^+ + K^+)$ -ATPase-Moleküls wurde durch die Harnstauung weder auf der gestauten noch auf der kontralateralen Seite signifikant gegenüber normalen Nieren verändert. Die Beobachtungen zeigen, daß die Harnstauung zu einer Verminderung von $(Na^+ + K^+)$ -ATPase-Molekülen pro Gewebsmasse führt, wohingegen keine Veränderung von Eigenschaften des Enzymmoleküls in den hydronephrotischen Nieren gefunden wurde. Über den Mechanismus der Veränderung von K_D in den kontralateralen Nieren geben diese Untersuchungen keine Auskunft.

Tab. 5 $(Na^+ + K^+)$ -ATPase in Nierengewebe: Die Anzahl der Strophanthin - Bindungsstellen, und die Dissoziationskonstante K_D wurden mit Hilfe von Scatchard plots errechnet. Die Assoziationsgeschwindigkeitskonstante k_{+1} wurde nach der Reaktionsgleichung zweiter Ordnung, die Dissoziationsgeschwindigkeitskonstante k_{-1} wurde nach der Reaktionsgleichung erster Ordnung errechnet. Die $(Na^+ + K^+)$ -ATPase-Aktivität wurde im enzymatisch gekoppelten Test bestimmt. Die Umsatzrate der $(Na^+ + K^+)$ -ATPase bezeichnet die Anzahl der von einem $(Na^+ + K^+)$ -ATPase - Molekül pro min hydrolysierten ATP-Moleküle. Normale Nieren: $(Na^+ + K^+)$ -ATPase-Aktivität, Strophanthin-Bindungsstellen, K_D , Umsatzrate, k_{+1} , k_{-1} , $n = 5$. Gestaute Rinde: Umsatzrate und K_D , $n = 14$, k_{+1} und k_{-1} , $n = 3$. Gestautes äußeres Mark: Umsatzrate und K_D , $n = 13$, k_{+1} , k_{-1} , $n = 2$, k_{-1} , $n = 3$. Kontralaterale Rinde: Umsatzrate und K_D , $n = 14$, k_{+1} und k_{-1} , $n = 3$. Kontralaterales äußeres Mark: Umsatzrate und K_D , $n = 12$, k_{+1} und k_{-1} , $n = 3$. a: Unterschied zu Rinde signifikant in Students t-Test für unabhängige Variable, b: Unterschied zu normalen Nieren signifikant in Students t-Test für unabhängige Variable

	normale Rinde	normales äußeres Mark	gestaute Rinde	gestautes äußeres Mark	kontralaterale Rinde	kontralaterales äußeres Mark
$(Na^+ + K^+)$ -ATPase (U/g Feuchtgewebe)					Werte abhängig von Dauer der Harnstauung	
	$9,5 \pm 2,4$	$13,6 \pm 3,1^a$				
$(Na^+ + K^+)$ -ATPase (U/g Protein)	143 ± 32	331 ± 18^a			Werte abhängig von Dauer der Harnstauung	
Bindungsstellen (10^4 /g Feuchtgewebe)	$13,0 \pm 4,7$	$24,2 \pm 8,4^a$				
Bindungsstellen (10^5 /g Protein)	$20,3 \pm 10,0$	$55,8 \pm 24,1^a$			Werte abhängig von Dauer der Harnstauung	
K_D ($10^{-9}M$)	$3,34 \pm 0,40$	$3,85 \pm 0,91$	$3,75 \pm 0,29$	$3,05 \pm 1,18$	$5,11 \pm 0,33^b$	$7,05 \pm 0,44^b$
k_{+1} ($10^4 M^{-1} sec^{-1}$)	$3,98 \pm 0,61$	$4,49 \pm 0,86$	$5,57 \pm 0,77^b$	$4,13$	$5,28 \pm 0,72^b$	$5,97 \pm 0,24^b$
k_{-1} ($10^{-4} sec^{-1}$)	$1,17 \pm 0,19$	$1,03 \pm 0,05$	$1,26 \pm 0,11$	$1,29 \pm 0,04^b$	$1,35 \pm 0,12$	$1,39 \pm 0,18$
Umsatzrate (10^3 /min)	$4,7 \pm 1,4$	$3,6 \pm 1,2$	$6,0 \pm 2,8$	$5,1 \pm 2,2$	$5,0 \pm 2,8$	$3,4 \pm 1,2$

Tab. 6 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase in Herzgewebe: Die Anzahl der g-Strophanthin-Bindungsstellen, und die Dissoziationskonstante K_D wurden mit Hilfe von Scatchard plots errechnet. Die Assoziationsgeschwindigkeitskonstante k_{+1} wurde nach der Reaktionsgleichung zweiter Ordnung, die Dissoziationsgeschwindigkeitskonstante k_{-1} wurde nach der Reaktionsgleichung erster Ordnung errechnet. Die ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase-Aktivität wurde im enzymatisch gekoppelten Test bestimmt. Die Umsatzrate der ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase bezeichnet die Anzahl der von einem ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase - Molekül pro min hydrolysierten ATP-Moleküle. a: Unterschied zu normalem Nierengewebe signifikant in Students t-Test für unabhängige Variable

	linker Ventrikel	rechter Ventrikel
n	6	3
($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase (U/g Feuchtgewebe)	$1,4 \pm 0,6^a$	$1,0 \pm 0,6^a$
($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase (U/g Protein)	$11,4 \pm 6,1^a$	$8,1 \pm 5,1^a$
Bindungsstellen (10^{14} /g Feuchtgewebe)	$1,3 \pm 0,4^a$	$1,2 \pm 0,3^a$
Bindungsstellen (10^{15} /g Protein)	$1,0 \pm 0,2^a$	$0,95 \pm 0,18^a$
K_D (10^{-9} M)	$4,44 \pm 0,47^a$	$3,98 \pm 0,55$

3.8 Regressionsgeraden

3.8.1 Urin-Osmolalität und Gewebe-Osmolalität

Abb. 20 zeigt eine Regressionsgerade zwischen Urin-Osmolalität und Gewebe-Osmolalität in 9 verschiedenen Nieren. Es fand sich eine gute Korrelation der beiden Parameter ($r = 0,96$). Über 400 mosm pro kg Urin oder Gewebe war die Gewebe-Osmolalität größer als die Urin-Osmolalität. Nach 20-stündiger Wasser- und Nahrungskarenz war kein vollständiger Ausgleich zwischen Urin-Osmolalität und Gewebe-Osmolalität erfolgt.

3.8.2 Urin-Osmolalität und $(Na^+ + K^+)$ -ATPase

Die Regressionsgerade zwischen Urin-Osmolalität und $(Na^+ + K^+)$ -ATPase-Aktivität pro Masse Feuchtgewebe im äusseren Nierenmark in 17 verschiedenen Nieren (gestaut und kontralateral nach unterschiedlichen Harnstauungsperioden mit und ohne Erholungsphase) zeigte eine gute Korrelation der beiden Parameter ($r = 0,85$). In Abb. 19 ist eine Regressionsgerade dargestellt zwischen Urinosmolalität und g-Strophanthin-Bindungsstellen pro Masse des Feuchtgewebes im äusseren Nierenmark (17 verschiedene Nieren: gestaut und kontralateral nach unterschiedlichen Harnstauungsperioden mit und ohne Erholungsphase). Es fand sich eine gute Korrelation der beiden Parameter ($r = 0,89$). Die osmotische Konzentrationsfähigkeit der untersuchten Nieren war proportional zur Na^+ -Transportkapazität vom Lumen des dicken aufsteigenden Teils der Henleschen Schleife ins Interstitium.

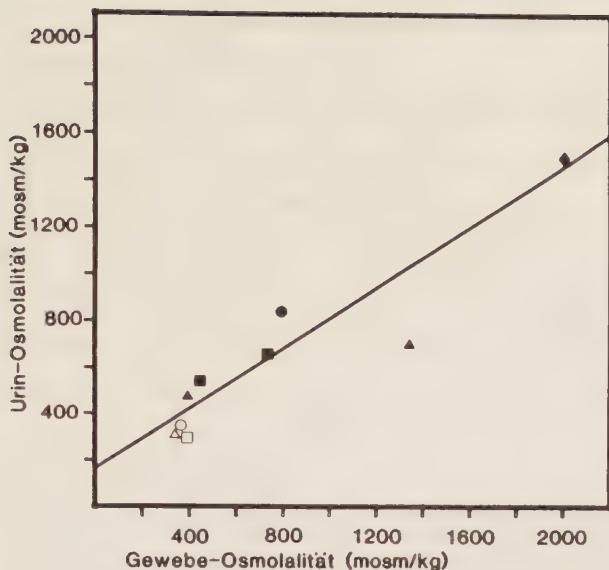


Abb. 20 Korrelation von Gewebe-Osmolalität und Osmolalität im Nierenbeckenurin. Die Osmolalität im Nierenbeckenurin (mosm/kg) wurde nach 20-stündiger Wasser- und Nahrungskarenz durch Gefrierpunktserniedrigung bestimmt. Die Gewebeer-Osmolalität wurde definiert als: $2 \times \text{Na}^+$ -Konzentration + $2 \times \text{K}^+$ -Konzentration + Harnstoffgehalt, jeweils in mmol/kg Feuchtgewebe. Na^+ - und K^+ -Konzentration wurden nach Aufschluß des Trockengewebes mit H_2O_2 und Salpetersäure flammenphotometrisch im Überstand gemessen und als mmol pro kg Feuchtgewebe angegeben. Die Harnstoffkonzentration wurde im Überstand des in 0,25 M Saccharose - 1 mM EDTA - Puffer homogenisierten Gewebes gemessen und als mmol pro kg Feuchtgewebe angegeben. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,96, jeder Punkt der Korrelationsgerade entspricht dem Wert aus einer einzelnen Niere.

- = einwöchige Harnstauung, keine Erholungsphase
- △ = zweiwöchige Harnstauung, keine Erholungsphase
- = dreiwöchige Harnstauung, keine Erholungsphase
- = einwöchige Harnstauung, 56 Tage Erholungsphase
- ▲ = zweiwöchige Harnstauung, 84 Tage Erholungsphase
- = dreiwöchige Harnstauung, 84 Tage Erholungsphase
- ◆ = vierwöchige Harnstauung, 84 Tage Erholungsphase.

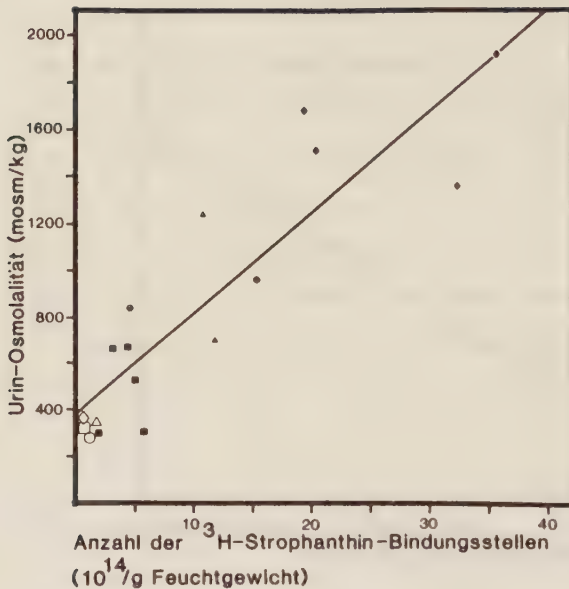


Abb. 21 Korrelation von ^3H -Strophanthin-Bindungs-kapazität und Urin-Osmolalität. Die Anzahl der ^3H -Strophanthin-Bindungsstellen wurde durch Scatchard plot mit 3 mM PO_4 , 3 mM MgCl_2 , 5 mM Imidazol , ca. $2,2 \times 10^{-6} \text{ M}$ ^3H -Strophanthin bei steigender Konzentration von unmarkiertem Strophanthin bestimmt. Die Urin-Osmolalität wurde im Nierenbeckenurin nach 20-stündiger Wasser- und Nahrungskarenz durch Gefrierpunkterniedrigung gemessen. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,89, jeder Einzelwert wurde in einer Niere ermittelt. ○ = einwöchige Harnstauung, keine Erholungsphase △ = zweiwöchige Harnstauung, keine Erholungsphase □ = dreiwöchige Harnstauung, keine Erholungsphase ◇ = vierwöchige Harnstauung, keine Erholungsphase ● = einwöchige Harnstauung, 56 Tage Erholungsphase ▲ = zweiwöchige Harnstauung, 84 Tage Erholungsphase ■ = dreiwöchige Harnstauung, 84 Tage Erholungsphase ◆ = kontralaterale Nieren.

4. Diskussion

4.1 PAH- und Inulin-Clearance

Die Durchblutung der Niere lässt sich anatomisch in zwei Kompartimente mit unterschiedlicher funktioneller Bedeutung gliedern. Die weitaus größte Blutmenge durchströmt die Nierenrinde und steht für den Filtrationsprozess in den Glomerula, sowie für Sekretions- und Resorptionsprozesse im proximalen und distalen Tubulus zur Verfügung. Das Plasmavolumen dieses Anteils wird als effektiver renaler Plasmafluss bezeichnet (Valtin, 1978). Nur eine geringe Blutmenge durchströmt das vasa recta System des Nierenmarks; der effektive renale Plasmafluß beträgt etwa 98% des gesamten renalen Plasmafluß. Die Clearance einer Substanz ist als das Plasmavolumen definiert, das pro Zeiteinheit von dieser Substanz "geklärt" wird. Die Clearance einer Substanz, die vollständig aus dem Plasma extrahiert wird, entspricht dem renalen Plasmafluß; die Clearance einer Substanz, die glomerulär filtriert und weder resorbiert noch sezerniert wird, entspricht der glomerulären Filtrationsrate. Unter optimalen Bedingungen entspricht die PAH-Clearance annähernd -beim Hund jedoch weniger exakt als beim Menschen- dem renalen Plasmafluß, die Inulin-Clearance der glomerulären Filtrationsrate. Die Extraktion einer Substanz ist als Bruchteil der aus dem Plasma entfernten Menge pro angebotener Menge dieser Substanz definiert. Die renale Extraktion von PAH wird durch den medullären Plasmafluß (funktioneller Shunt) begrenzt. Die Filtrationsfraktion ist der Anteil des effektiven renalen Plasmafluß der glomerulär filtriert wird. Vorgänge, welche die glomeruläre Filtrationsrate und den effektiven renalen Plasmafluß beeinflussen, können daher auch die Filtrationsfraktion verändern.

Die Untersuchungen zeigen, daß die Erholungsfähigkeit der PAH- und Inulin-Clearance während Antidiurese nach chronischer einseitiger Harnstauung von der Dauer der Harnstauungsperiode abhängt. Ähnliche Ergebnisse wurden von Kerr (1954, 1956) an hydrierten Hunden gefunden. Akut bei Aufheben der Harnstauung waren PAH- und Inulin-Clearance minimal, die Dauer der Okklusion beeinflusste diese Werte nicht wesentlich. Die PAH- und Inulin-Clearance von einwöchig gestauten Nieren erreichten nach 10-tägiger Erholung etwa 66% des Ausgangswertes und blieben 46 Tage lang stabil. Nach zwei- und dreiwöchiger Harnstauung dauerte die Erholungsphase 28 Tage. Danach waren PAH- und Inulin-Clearance 50%, bzw. 10% des Ausgangswertes und blieben 56 Tage lang stabil. Nach vierwöchiger Harnstauung fand sich keine signifikante Erholung der PAH- oder Inulin-Clearance.

Die in diesen Experimenten gemessenen Werte der PAH- und Inulin-Clearance lassen jedoch nur mit Einschränkungen Rückschlüsse auf renalen Plasmafluß bzw. glomeruläre Filtrationsrate zu. Die PAH- und Inulin-Clearance wurden durch Division der pro Zeiteinheit ausgeschiedenen Menge durch die Plasmakonzentration ermittelt. Zur Vermeidung von Kontaminationen wurden alle Blutproben über einen separaten Katheter entnommen. Die Messung der PAH- und Inulin-Konzentration mit den verwendeten Methoden ist recht genau (Richterich, 1971). Der Variationskoeffizient der Konzentrationsmessungen des stets mitgeführten Standards lag unter 1,5 %. Problematischer war die Messung des Harnzeitvolumens. Die Urinproben wurden über einen Ureterenkatheter gewonnen, dessen Innenvolumen (Totraum) 0,15 ml betrug. Diesem Totraum wurde durch die Equilibrierungsphase von 30 min Rechnung getragen. Mit leichtem Sog ließ sich das Nierenbecken bei korrekter Katheterlage stets gut ent-

leeren. Dennoch erschien die Messung ungenau, wenn die Urinvolumina pro Sammelperiode geringer als 0,1 ml waren, wie beispielsweise nach einer Stauung von vier Wochen. Eine Rückdiffusion der filtrierten oder sezernierten Substanzen verringert ihre Clearance. Zur gleichzeitigen Bestimmung der osmotischen Konzentrationsfähigkeit wurden alle Messungen in Antidiurese durchgeführt. Bei kleinen Harnzeitvolumina herrschen aufgrund des geringen Harnflusses und der höheren Konzentrationsgradienten zwischen Urin und Plasma günstigere Bedingungen für eine Rückdiffusion. Dabei ist der Diffusionswiderstand für das kleinere PAH-Molekül entsprechend seines größeren Verteilungsraumes (Wesson 1965) geringer, und der Konzentrationsgradient aufgrund der tubulären Sekretion größer. Eine Rückdiffusion von PAH und Inulin aus Ureter und Blase wurde von Heidenreich (1961) beschrieben. Ureter und Blase kamen in diesen Experimenten nicht als Resorptionsort in Betracht. Eine Rückdiffusion von PAH und möglicherweise auch Inulin innerhalb des Nephrons ist in diesen Experimenten mit großer Wahrscheinlichkeit aufgetreten. Eine relativ größere PAH-Rückdiffusion könnte die niedrigen Werte der PAH-Extraktion und damit den hohen Quotienten der Inulin-/ PAH-Clearance erklären.

Für physikalische Gesetzmäßigkeiten zwischen Filtrationsfraktion und Strömungswiderständen in *vas afferens*, *vas efferens* und Glomerularmembran gilt in erster Näherung das Ohmsche Gesetz. Setzt man vereinfachend voraus, daß in Nierenvene und Bowmanscher Kapsel die gleichen Druckverhältnisse herrschen, so läßt sich folgendes Modell auf die Zusammenhänge zwischen Druck, Strömungswiderstand und Perfusionsrate in *vas afferens*, *vas efferens* und Glomerulum anwenden (Abb. 22).

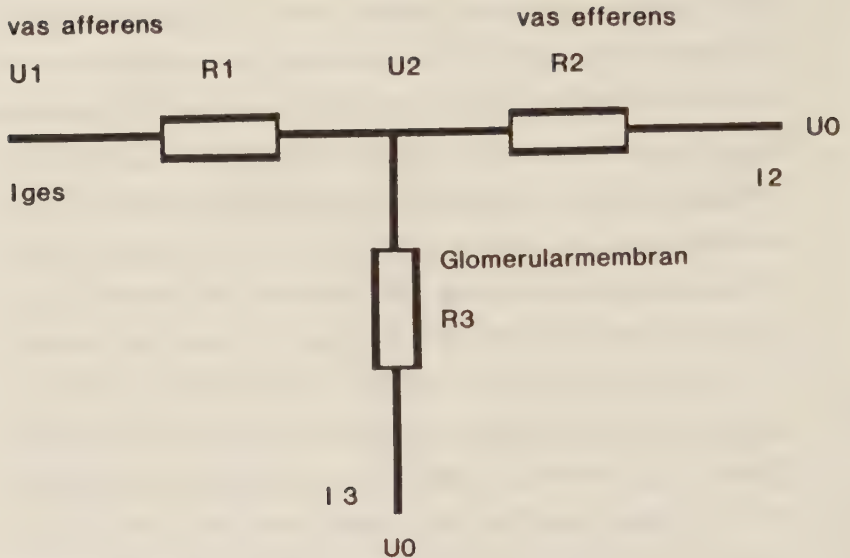


Abb. 22: U_1 = systemischer Blutdruck, U_2 = glomerulärer Filtrationsdruck, U_0 = Druck in Nierenbecken bzw. Nierenvene, I_{ges} = effektiver renaler Plasmafluß, I_2 = Perfusionsrate des vas efferens, I_3 = glomeruläre Filtrationsrate, R_1 = Widerstand im vas afferens, R_2 = Widerstand im vas efferens, R_3 = Filtrationswiderstand

Der physikalische Zusammenhang zwischen Filtrationsfraktion und Strömungswiderständen leitet sich wie folgt her.

$$I_2 = U_2 / R_2 ; I_3 = U_2 / R_3 \text{ (Ohmsches Gesetz)}$$

$$I_2 / I_3 = (U_2 \times R_3) / (U_2 \times R_2) ;$$

$$I_2 = I_3 \times R_3 / R_2$$

$$I_{ges} = I_2 + I_3$$

$$I_{ges} = I_3 \times R_3 / R_2 + I_3$$

$$I_{ges} = I_3 \times (R_3 / R_2 + 1)$$

Für die Filtrationsfraktion ergibt sich also:

$$I_{ges} / I_3 = R_3 / R_2 + 1$$

Daraus folgt, daß unter Annahme der o.e. Voraussetzung der renale

Plasmafluß und die glomeruläre Filtrationsrate in einem konstanten Verhältnis verändert werden, wenn sich nur der präglomeruläre Widerstand verändert, oder postglomerulärer Widerstand und Filtrationswiderstand sich in konstantem Verhältnis ändern. Wilson (1980) postulierte eine präglomeruläre Vasokonstriktion als Ursache für die Veränderungen. Blantz (1975) fand eine Erhöhung des glomerulären Filtrationswiderstandes während Erhöhung des intraureteralen Druckes in Ratten unter Hypopenie. Der Inulin-/PAH-Clearance-Quotient vor und nach Harnstauung veränderte sich nicht signifikant. Der Variationskoeffizient ist jedoch so groß, daß sich Veränderungen der Filtrationsfraktion unter den gegebenen Versuchsbedingungen nicht ausschließen ließen. Die beobachteten Veränderungen von PAH- und Inulin-Clearance lassen sich jedoch aufgrund der oben beschriebenen Zusammenhänge gut durch eine präglomeruläre Vasokonstriktion erklären.

Die PAH-Extraktion erfolgt durch glomeruläre Filtration und tubuläre Sekretion. Die tubuläre Sekretion ist ein aktiver Transport, der einer Sättigungskinetik unterliegt (Deetjen, 1961; Courtney, 1965; Sodeman und Sodeman, 1974). Ist der PAH-Transport nicht gesättigt, liegt die PAH-Extraktion in der gesunden Niere beim Hund über 0,8 (Carriere et al. 1971; Yarger, 1974). Sodeman und Sodeman (1974) postulierten, daß die PAH-Konzentration im Plasma, bei der der Transport gesättigt ist, durch die Eigenschaften des Transportmoleküls und nicht durch die Menge der Transportmoleküle bestimmt ist. Bei einem Verlust von Transportmolekülen pro Zelle könnte das Transportmaximum für PAH gesenkt werden. Auch bei "unterschwelligem" PAH-Plasmakonzentrationen wäre die PAH-Extraktion vermindert. Durch Perfusion nicht funktionierender Nephren könnte ein

funktioneller Shunt entstehen als weitere Ursache für eine verminderte PAH-Extraktion. Ein funktioneller Shunt würde das Verhältnis von PAH- zu Inulin-Clearance unbeeinflusst lassen. Die Filtrationsleistung der verschiedenen Nephren wird durch eine einseitige Harnstauung in unterschiedlichem Ausmaß beeinträchtigt: Buerkert et al. (1978) fanden nach 18-stündiger Harnstauung in Ratten eine stärkere Einschränkung der Filtrationsleistung corticaler Nephren. Untersuchungen von Nishikawa et al. (1977), Morrison et al., (1978, 1981) und Huland et al. (1983) deuten darauf hin, daß Prostaglandine als Mediatoren hierbei eine Rolle spielen.

4.2 Na^+ - und K^+ -Ausscheidung

Über die absolute und fraktionelle Na^+ -Resorption und die K^+ -Ausscheidung ließen sich keine Aussagen machen, da vor Anlegen der PAH- und Inulin-Infusion kein Harnzeitvolumen messbar war. Eine Verminderung der Na^+ -Konzentration im Tubulus findet im dicken aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife und im distalen Tubulus statt. Ein Rückgang dieses Transportes könnte sich in einer Veränderung des Verhältnisses von Na^+ im Urin zu Na^+ im Plasma bemerkbar machen, die jedoch in unseren Experimenten nicht beobachtet wurden. Bei den Veränderungen der Urin-Osmolalität, und damit einer nicht näher quantifizierten Verminderung der fraktionellen Wasser-Resorption, lassen sich jedoch keinerlei Aussagen aus der beobachteten Konstanz des Quotienten Na^+ -Konzentration im Urin/ Na^+ -Konzentration im Plasma machen. Na^+ -Resorption und die Resorption freien Wassers wurden durch einseitige Harnstauung gleichermaßen vermindert. Die Ursache für diesen Zusammenhang könnte in einer Regulation des Na^+ -Transportes durch das Na^+ -Angebot

-wie von Katz (1982) beschrieben- zu sehen sein.

Die Ursache der persistierenden Verminderung der K^+ -Konzentration im Urin bleibt unklar. Wilson (1980) beschrieb eine verminderte fraktionelle und absolute K^+ -Ausscheidung nach Aufheben einer 24-stündigen einseitigen Harnstauung. Als mögliche Gründe wurden ein vermindertes Na^+ -Angebot, verminderte tubuläre Flußrate und eine Verminderung der distal tubulären K^+ -Ausscheidung angeführt. In den vorliegenden Untersuchungen findet sich kein Hinweis auf verminderte tubuläre Flußrate oder vermindertes Na^+ -Angebot im distalen Nephron nach Abschluß der Erholungsphase einwöchig gestauter Nieren. Ein persistierender Defekt des distalen K^+-H^+ -Gegentransport wie von Thirakomen (1976) gefordert könnte als eine Erklärungsmöglichkeit in Betracht kommen.

4.3 Osmotische Konzentrationsfähigkeit

Während die K^+ -Ausscheidung durch chronische einseitige Harnstauung irreversibel geschädigt wird, kann sich die osmotische Konzentrationsfähigkeit ähnlich wie die PAH- und Inulin-Clearance erholen. Die Erholungsfähigkeit der innerhalb 20-stündigem Durstversuch erreichten osmotischen Konzentration des Harns zeigte signifikante Unterschiede zwischen allen Gruppen. Während bei Aufheben der Harnstauung der Urin in allen Fällen plasmaisoton war, erfolgte nach einwöchiger Harnstauung innerhalb von 56 Tagen eine restitutio ad integrum. Zwischen 28. und 84. Tag nach Aufheben zwei- und dreiwöchiger Harnstauung fand kein statistisch signifikanter Anstieg der Urinosmolalität statt; in der großen Standardabweichung am 84. Tag nach Aufheben der Harnstauung könnte sich jedoch der Beginn einer zweiten Erholungsphase verbergen. Die persistierende Isostenurie nach

vierwöchiger Harnstauung scheint eine Regenerationsmöglichkeit der osmotischen Konzentrierungsfähigkeit auszuschließen.

Die Fähigkeit der Niere, bei eingeschränkter Flüssigkeitszufuhr den Endharn zu konzentrieren, stellt einen wichtigen Beitrag zur Homöostase dar. Im Gegensatz zur beidseitigen Hydronephrose sind bei der einseitigen Harnstauungsniere Harnzeitvolumen und Konzentrierungsfähigkeit gleichermaßen vermindert. Der Verlust freien Wassers ist dabei so gering, daß er den Gesamtorganismus nicht beeinträchtigt. Wilson (1978) fand bei beidseitiger Hydronephrose proportionale Veränderungen von $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ -Aktivität im äußeren Nierenmark und osmotischer Konzentrierungsfähigkeit. In dieser Studie sollte untersucht werden, ob dies auch bei der einseitigen Hydronephrose der Fall ist, und ob eine Verringerung von $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ -Molekülen pro Gewebemasse dafür verantwortlich ist.

Die Konzentrierung des Endharns erfolgt durch Wasserdiffusion aus dem Sammelrohr in das Interstitium, bzw. in ein Zentralkompartiment ("central core") aus Vasae rectae System und Interstitium. Innerhalb dieses Zentralkompartiments sei eine freie Diffusion von Natrium, Kalium und Harnstoff möglich (Kokko und Rector, 1972; Stephenson, 1972). Die Wasserdiffusion in das Zentralkompartiment wird durch das antidiuretische Hormon (ADH) über eine Beeinflussung der Wasserpermeabilität der Sammelrohre gesteuert, und durch den Osmogradienten angetrieben. Bei maximaler Harnkonzentrierung sollte die Osmolalität in Urin und Zentralkompartiment gleich sein (Horster und Valtin, 1971). Bestimmungen der Gewebeosmolalität im inneren Mark und der Urinosmolalität zeigen, daß nach 20-stündiger Wasser- und Nahrungskarenz noch kein vollständiger Osmolalitätsausgleich erreicht war. Da die Osmolalität im Gewebe in toto und nicht im

Zentralkompartiment an der Papillenspitze bestimmt wurde, wäre bei vollständigem Konzentrationsausgleich eine höhere Urinosmolalität zu erwarten.

Die osmotische Konzentrierung im Zentralkompartiment entsteht durch aktiven Na^+ -Transport aus dem dicken aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife und Harnstoffdiffusion aus dem Sammelrohr. Kuhn und Ryffel (1942) konnten erstmals an einem Modell zeigen, daß durch Kombination einer Gegenstromschleife mit einer longitudinalen Strömung ohne aktiven Transport ein osmotischer Gradient in Längsrichtung aufgebaut werden kann. Dazu waren zwei gelöste Substanzen sowie unterschiedliche Permeabilitätseigenschaften der Trennungswände zwischen den einzelnen Gefäßen Voraussetzung. Kuhn und Ryffel verwendeten in ihrem Modell Phenol für den longitudinalen Strom und eine Saccharoselösung in der Gegenstromschleife. Der linear fließende Phenol war von der Gegenstromschleife durch eine Membran getrennt, die für Phenol permeabel, für Saccharose und Wasser jedoch impermeabel war. Die beiden Schenkel der Gegenstromschleife waren durch eine Membran getrennt, die wasserdurchlässig aber impermeabel für Phenol und Saccharose war. In diesem System diffundierte Phenol in den aufsteigenden Teil der Gegenstromschleife, was eine Erhöhung der Osmolalität und eine Wasserdiffusion vom absteigenden in den aufsteigenden Teil der Gegenstromschleife zur Folge hatte. Es entwickelte sich ein osmotischer Gradient zwischen der Spitze der Schleife und den Enden. Dieses Modell läßt sich auf die Niere übertragen, in der ein longitudinaler Fluß einer hochkonzentrierten Harnstofflösung im inneren Mark mit einer reichlich Na^+ enthaltenden Gegenstromschleife kombiniert ist. Als aktive Komponente für diesen Prozess befindet sich im Tubulusepithel des dicken

aufsteigenden Teils der Henleschen Schleife eine hohe Aktivität von $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ (Hendler et al. 1969, 1971; Jorgensen, 1980). Burg (1982) konnte zeigen, daß durch dieses Enzym bei relativer Wasserimpermeabilität des dicken aufsteigenden Teils der Henleschen Schleife ein hoher Na^+ -Konzentrationsgradient zwischen Interstitium und Tubuluslumen erreicht werden kann. Hierbei wird Na^+ aktiv ins Interstitium transportiert; der Na^+ -Einstrom in die Zelle erfolgt passiv. Der Na^+ -Transport ist von einem gleichzeitigen Cl^- -Transport abhängig. Wird dieser durch Furosemid gehemmt, so sistiert auch der Na^+ -Transport (Burg, 1982). Weil der aktive Na^+ -Flux in das Zentralkompartiment des äußeren Nierenmarks offenbar unabhängig von einem osmotischen Wasserflux erfolgt, steigt die Osmolalität an. Im absteigenden Teil der Henleschen Schleife ist die Na^+ - und Wasserpermeabilität relativ hoch (Kokko und Rector, 1972). Durch Wasserdiffusion aus und Na^+ -Diffusion in den absteigenden Teil der Henleschen Schleife wird die intraluminale Na^+ -Konzentration und damit das Na^+ -Angebot an das innere Mark erhöht. Durch die hohe Harnstoffkonzentration im Zentralkompartiment des inneren Marks (siehe unten), die eine weitere Wasser- und Na^+ -Diffusion aus dem absteigenden Teil der Henleschen Schleife bewirkt, sowie durch das Gegenstromprinzip der Henleschen Schleife, ergibt sich ein longitudinales Na^+ -Konzentrationsgefälle von der Papillenspitze zur Rinde (Kokko und Rector, 1972). Von Burg (1982) wurde postuliert, daß der Na^+ -Transport im dicken aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife außerdem das Harnstoffangebot an das distale Nephron erhöht. Wegen der Harnstoffimpermeabilität im dicken aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife, im distalen Tubulus sowie im corticalen und äußermedullären Sammelrohr (Knepper, 1983^{1,2})

bewirken die Transportvorgänge von Elektrolyten und Wasser eine hohe Konzentration von Harnstoff im Sammelrohr am Übergang vom äußeren zum inneren Mark (Kokko und Rector, 1972; Horster, 1984).

Die Mechanismen, die bei der einseitigen Harnstauungsniere die osmotische Konzentrationsfähigkeit vermindern, wurden von Wilson (1980) beschrieben:

- vermindertes Angebot von löslichen Substanzen an das innere Mark
- relativ oder absolut gesteigerter Plasmafluß im Nierenmark
- verminderte fraktionale Flüssigkeitsresorption im inneren Mark
- gesteigerter Lymphabfluß
- Diffusion gelöster Stoffe ins Nierenbecken
- vermindertes Ansprechen der Sammelrohre auf ADH
- verminderte interstitielle Osmolalität im Nierenmark.

Eknoyan et al. (1970) nahmen an, daß die Anzahl Henlescher Schleifen pro Volumen des inneren Marks abgenommen hat, und postulierten, daß dies die osmotische Konzentrationsfähigkeit zusätzlich vermindert.

In den vorliegenden Untersuchungen korreliert die maximale $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ -ATPase-Aktivität und die spezifische Anzahl der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ -ATPase-Moleküle im äußeren Nierenmark gut mit der Urinosmolalität nach 20-stündigem Durstversuch. Der größte Anteil der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ -ATPase im äußeren Nierenmark findet sich im dicken aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife (Shaver und Stirling, 1978; Jorgensen, 1980; El Mernissi und Doucet, 1984). Eine Verminderung der maximalen Transportkapazität für Na^+ im dicken aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife hat -entsprechend der o.e. physiologischen Zusammenhänge- ein vermindertes Na^+ -Angebot an das innere Mark zur Folge. Deswegen könnte die Osmolalität im Zentralkompartiment abnehmen als Ursache der verminderten osmotischen Konzentrationsfähigkeit.

Außer einem geringen Anstieg von K_D im äußeren Mark der kontralateralen Nieren wurden keine sicher reproduzierbaren Veränderungen der Enzymeigenschaften (Umsatzrate von ATP, K_D , k_{+1} und k_{-1} für Strophanthin) beobachtet. Die Verminderung der Na^+ -Transportkapazität im dicken aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife kann damit auf den Verlust von $(Na^+ + K^+)$ -ATPase-Molekülen zurückgeführt werden. Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß die Enzymeigenschaften unter optimalen Bedingungen in vitro gemessen wurden; der Einfluß des Gewebemilieus wurde nicht untersucht. Veränderungen von Enzymeigenschaften der $(Na^+ + K^+)$ -ATPase nach kontralateraler Nephrektomie (v_{max} , K_m für ATP und $k_{1/2}$ für K^+) wurden von Jacobson (1980) beobachtet. Eine funktionelle Auswirkung des in diesen Experimenten beobachteten Anstiegs von K_D für Strophanthin konnte jedoch nicht festgestellt werden.

Eine verminderte peritubuläre Osmolalität wird von Alexander und Lee (1970) als Ursache der verminderten $(Na^+ + K^+)$ -ATPase-Aktivität im dicken aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife wurde gefordert, während Katz (1982) ein vermindertes intratubuläres Na^+ -Angebot in Betracht zieht.

Die Veränderungen der $(Na^+ + K^+)$ -ATPase beeinflussten den Na^+ -Gehalt im Gewebe folgendermaßen. Der Students t-Test für verbundene Stichproben zeigte, daß der Na^+ -Gehalt im äußeren Nierenmark von gestauten und kontralateralen Nieren gleich groß war. Im inneren Mark von gestauten Nieren dagegen war der Na^+ -Gehalt signifikant niedriger als in den kontralateralen Nieren, wie der Students t-Test für nicht verbundene Stichproben zeigte. Berlyne und Macken (1962) und Ekonyan et al. (1970) fanden signifikant niedrigere

Na^+ -Gehalte sowohl im äußeren als auch im inneren Mark nach einseitiger Harnstauung. Der Na^+ -Gehalt im Kompartiment des äußeren Nierenmarks wird durch die Bilanz zwischen Einstrom und Ausstrom von Na^+ und Wasser bestimmt. Der aktive Na^+ -Transport im dicken aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife bewirkt bei geringer Wasserpermeabilität eine Na^+ -Anreicherung im äußeren Mark, da mehr Na^+ ein- als ausströmt. Die Akkumulation von Na^+ im Zentralkompartiment des äußeren Marks bewirkt -wie bereits beschrieben- einen Wasserausstrom aus und Na^+ -Einstrom in den absteigenden Teil der Henleschen Schleife und das Sammelrohr. Die durch diese Nephronabschnitte aus dem äußeren Mark ausströmende Na^+ -Menge ist größer als die einströmende Menge. Da das Zentralkompartiment zum Cortex und inneren Mark offen ist, kann Na^+ aus dem inneren Mark einströmen und in den Cortex ausströmen. Es besteht ein Fließgleichgewicht zwischen Na^+ -Einstrom und Ausstrom. Dabei bestimmt die $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{ATPase}$ zwar die Na^+ -Flußraten jedoch nicht notwendigerweise den Na^+ -Gehalt im äußeren Marks. Die Na^+ - und Wasserdiffusion aus dem absteigenden Teil der Henleschen Schleife und die Na^+ -Diffusion aus dem dünnen aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife im inneren Mark werden hauptsächlich durch hohe Harnstoffkonzentrationen getrieben (siehe oben). Das Na^+ -Angebot an das innere Mark wird durch den transepithelialen Na^+ -Transport im dicken aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife bestimmt (siehe oben). Diese den Na^+ -Gehalt im inneren Mark erhöhenden Vorgänge beeinflussen auch die osmotische Konzentrationsfähigkeit. Der Vergleich der Na^+ -Gehalte im inneren Mark gestauter versus kontralateraler Nieren zeigte daher signifikante Unterschiede.

Die Ergebnisse stehen in guter Übereinstimmung mit der Hypothese, daß der Rückgang der Konzentrierungsfähigkeit durch eine Verminderung von $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ -ATPase-Molekülen pro Gewebemasse verursacht wird. Die meisten der von uns beobachteten Veränderungen könnten von einer präglomerulären Vasokonstriktion (Wilson, 1980) hergeleitet werden, für die wiederum Prostaglandine als Mediatoren verantwortlich sein sollen. Eine präglomeruläre Vasokonstriktion könnte nämlich die glomeruläre Filtrationsrate proportional zum renalen Plasmafluß verringern. Dadurch wäre das tubuläre Na^+ -Angebot verringert, was eine Verminderung der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ -ATPase im dicken aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife und eine Verringerung der Na^+ -Transportkapazität proportional zum verringerten Harnfluß verursachen könnte (Katz, 1982). Was die Stimulation der Prostaglandinsynthese auslöst, wird jedoch noch Gegenstand weiterer Untersuchungen sein. Auch läßt sich die postulierte irreversible Schädigung des distalen K^+/H^+ -Ausscheidungsmechanismus noch nicht in dieses Konzept eingliedern.

5. Zusammenfassung

Um dem Kliniker einen Anhalt für die Prognose einer einseitigen Harnstauungsniere zu geben, wurde die funktionelle Erholung verschiedener Parameter der Nierentätigkeit nach ein bis vierwöchiger Harnstauung untersucht. Veränderungen der PAH- und Inulin-Clearance erschienen parallel. Die Erholung der beiden Parameter dauerte 10 bis 28 Tage nach Aufheben der Harnstauung. Bei zwei- und dreiwöchiger Harnstauung verbesserte sich die Urin-Osmolalität nach dem 28. Tag der Erholungsphase ebenfalls nicht mehr. Immerhin kam es nach einwöchiger Stauung innerhalb von 56 Tagen zu einer restitutio ad integrum. Während die Na^+ -Ausscheidung der verminderten Filtrationsleistung ebenfalls annähernd parallel zu sein schien, war die K^+ -Ausscheidung in allen Fällen irreversibel vermindert. Bei einseitiger Harnstauung kann die Funktion der geschädigten Niere vom gegenseitigen Organ voll übernommen werden. Aufgrund der eingeschränkten Filtrationsleistung entsteht kein maßgeblicher Verlust von Wasser und Elektrolyten. Informationen über die Prognose der geschädigten Niere sind in erster Linie für die Entscheidung wichtig, ob die Nephrektomie oder ein organerhaltender Eingriff indiziert ist. Die Untersuchungen zeigen, daß die Prognose der einseitigen Harnstauungsniere in erster Linie von der Früherkennung und rechtzeitigem chirurgischen Eingreifen abhängt. Unter sonographischer Kontrolle kann bis zur Entscheidung über die definitive Versorgung .transkutan eine Drainage in das Nierenbecken eingelegt werden. Sicherlich sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen hinsichtlich der Dauer der Regenerationsphase nur größter Vorsicht auf den Menschen übertragbar. Dennoch kann als gesichert gelten, daß die Prognose erst nach einem längeren Beobachtungszeitraum festgelegt werden kann. Als

Funktionsparameter für die Klinik würde sich beispielsweise die ^{131}J -Hippuran- Clearance anbieten.

Die pathophysiologischen Veränderungen in hydronephrotischen Nieren entsprechen sich beim Hund und beim Menschen weitgehend (Gillenwater, 1978). Hierbei scheinen Prostaglandine als Mediatoren eine zentrale Rolle zu spielen. Huland et. al. (1983) beobachteten Funktionsverbesserungen von Harnstauungsniere durch Hemmung der Prostaglandinsynthese am Hund. Ob sich eine medikamentöse Unterstützung der primär chirurgischen Therapie von Harnstauungsniere auch für die Anwendung am Menschen eignet, wäre von weitreichendem klinischen Interesse.

6. Literaturverzeichnis

1. Alexander, J. C., Lee, J. B.:
Effect of osmolality on $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -ATPase in outer renal medulla
Am. J. Physiol., 219 (6): 1742, 1970
2. Alken, C. E., Sökeland, J.:
Zur Terminologie der Harnstauungsniere
Der Urologe, 5 (3): 97, 1966
3. Allen, J. C., Martinez Maldonado, M., Eknoyan, G., Suki, W. N., Schwartz, A.:
Relation between digitalis binding in vivo and inhibition of Sodium, Potassium-Adenosine Triphosphatase in canine kidney
Biochem. Pharmacol., 20 : 73, 1971
4. Aperia, A., Herin, P., Josephson, S., Lännergren, K.:
Renal function in dogs with chronic moderate unilateral ureteral obstruction
Scand. J. clin. Lab. Invest., 42 : 1-8, 1982
5. Aperia, A., Larsson, L.:
Induced development of proximal tubular Na,K-ATPase , basolateral cell membranes and fluid reabsorption.
Acta Physiol. Scand., 121 : 133-141, 1984
6. Baethmann, A., Van Harreveld, A.:
Water and electrolyte distribution in gray matter rendering edematous with a metabolic inhibitor
J. Neuropath. Exp. Neurol., 32 : 334, 1967
7. Barrat, L. J., Wallin, J. D., Rector, Jr., F. C., Seldin, D. W.:
Influence of volume expansion on single-nephron filtration rate and plasma flow in the rat
Am. J. Physiol., 224 (3): 643, 1973
8. Bay, W. H., Stein, J. H., Rector, H. B., Osgood, R. W., Ferris, T. F.:
Restribution of renal cortical blood flow during elevated ureteral pressure
Am. J. Physiol., 222 (1): 33, 1972
9. Bercovitch, E. D., Kasen, L., Blann, L., Levitt, M. F.:
The postobstructive kidney. Observations on nephron function after the relief of 24 hr of ureteral ligation in the dog
J. Clin. Invest., 50 : 1154, 1971
10. Berliner, R. W., Bennet, C. M.:
Concentration of urine in the mammalian kidney
Am. J. Med., 42 : 777, 1967

11. Berlyne, G. M., Macken, A.:
On the mechanism of renal inability to produce a
concentrated urine in chronic hydronephrosis
Clin. Sci., 22 : 315-324, 1962
12. Blantz, R. C., Konnen, K. S., Tucker, B. J.:
Glomerular filtration response to elevated ureteral
pressure both in the hydropenic and the plasma-expanded rat
Circ. Res., 37 : 819, 1963
13. Blantz, R. C., Katz, M. A., Rector, F. C.,
Seldin, jr., D. W.:
Measurement of intrarenal blood flow. II Effect of saline
diuresis in the dog
Am. J. Physiol., 220 (6): 1914, 1971
14. Buerkert, J., Martin, D., Head, M., Prasad, J., Klahr, S.:
Deep nephron function after release of acute unilateral
ureteral obstruction in the young rat
J. Clin. Invest., 62 : 1228, 1978
15. Burg, M. B., Grollmann, E., Orloff, J.:
Sodium and potassium fluxes of separated renal tubules
Am. J. Physiol., 206 (3): 483-491, 1964
16. Burg, M. B., Orloff, J.:
PAH uptake and exchange by separated renal tubules
Am. J. Physiol., 217 (4): 1064, 1969
17. Burg, M. B.:
Thick ascending limb of Henle's loop
Kidney Int., 22 : 454-464, 1982
18. Büttner, M., Brown, L., Wieland, W.-F., Erdmann, E.:
Renal function and $(Na + K)$ -ATPase in chronic
hydronephrosis in dogs
J. Urol., 135 : 185 - 190, 1986
19. Carriere, S., Fribourg, J., Guay, J. P.:
Vasodilators, intrarenal blood flow and natriuresis in
the dog
Am. J. Physiol., 221 (1): 92-98, 1971
20. Cortney, M. A., Mylle, M., Lassiter, W. E.,
Gottschalk, C. W.:
Renal tubular transport of water, solute, and PAH in rats
loaded with isotonic saline
Am. J. Physiol., 209 : 1199, 1965
21. Deetjen, P., Sonnenberg, H.:
PAH-Transport im proximalen Konvolut des Warmblüternephrons
Pflügers Arch., 278 : 48, 1963
22. Deetjen, P., Sonnenberg, H.:
Das Tm-PAH als Folge begrenzter Lumenkonzentration und Höhe

der Harnstromsärke im proximalen Konvolut
Pflügers Arch., 279 : R28, 1964

23. Deetjen, P., Sonnenberg, H.:
Der tubuläre Transport von p-Aminohippursäure
Mikroperfusionsversuche am Einzelnephron der Rattentiere
in situ
Pflügers Arch., 285 : 35, 1965
24. Doucet, A., Katz, A. I., Morel, F.:
Determination of Na-K-ATPase activity in single segments
of the mammalian nephron
Am. J. Physiol., 237 (2) (Renal Fluid Electrolyte
Physiol 6 (2)): F105-F113, 1979
25. Eknoyan, G., Suki, W. N., Martinez-Maldonado, M.,
Anhalt, A.:
Chronic hydronephrosis: observations on the mechanism of
the defect in urine concentration
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 134 : 634-639, 1970
26. El Mernissi, G.,³ Doucet, A.:
Quantitation of ³H-ouabain binding and turnover of
Na-K-ATPase along the rabbit nephron
Am. J. Physiol., 247 (Renal Fluid Electrolyte Pysiol.
16): F158-F167, 1984
27. Erdmann, E.:
Biochemische Grundlagen der Wirkung von Digitalisglykosiden
Verh. Dtsch. Ges. Herz- und Kreislauaufforsch., 48 : 7-18,
1982
28. Erdmann, E., Schoner, W.:
Ouabain receptor interaction in (Na⁺ + K⁺)-ATPase
preparations from different tissues and species.
Determination of kinetic constants and dissociation
constants
Biochim. Biophys Acta, 307 : 386, 1973.
29. Ernst, S. A., Schreiber, J. H.:
Ultrastructural localization of Na⁺, K⁺-ATPase in rat
and rabbit kidney medulla
J. Cell. Biol., 91 : 803, 1981
30. Finkle, A. L., Karg, S. J., Smith, D. R.:
Parameters of renal functional capacity in reversible
hydroureternephrosis in dogs.
II. Effects of one hour of ureteral obstruction upon
urinary volume osmolality T H₂O, C PAH, RBF_{Kr},
pUO₂
Invest. Urol. 6 (1): 26-38, 1968
31. Finkle, A. L., Karg, S. J., Smith, D. R.:
Parameters of functional capacity in reversible
hydroureternephrosis in dogs.

III. Effects of one hour of ureteral obstruction upon UV,
Cosm. TC, H_2O , C_{Na} , C_{PAH} , FF, RBF, K_r of
intact kidneys
Invest. Urol. 7 (3): 215-231, 1969

32. Foulkes, E. C., Miller, B. F.:
Steps in p-aminohippurate transport by kidney stices
Am. J. Physiol., 196 (1): 86-92, 1959
33. Foulkes, E. C., Miller, B. F.:
Transport of p-aminohippurate from cell to lumen in kidney
tubule
Am. J. Physiol., 196 (1): 83, 1959
34. Garg, L.C., Knepper, M. A., Burg, M. B.:
Mineralocorticoid effects on Na-K-ATPase in individual
nephron segments
Am. J. Physiol. 240 (Renal Fluid Electrolyte Physiol.
9): F536-F544, 1981
35. Gillenwater, J.Y., Panko, W. B.:
Renal metabolism: current concepts
Urol. Survey 21 : 331, 1971
36. Gillenwater, J.Y.:
The pathophysiology of urinary obstruction
In: J. H. Harrison et. al.: Campbell's urology
Saunders Company, Philadelphia-London-Toronto, 1978
37. Gottschalk, C. W., Mylle, M.:
Micropuncture studies of pressures in proximal tubules
and peritubular capillaries of the rat kidney and their
relation to ureteral and renal venous pressures
Am. J. Physiol., 185 : 430, 1956
38. Gottschalk, C. W., Mylle, M.:
Micropuncture study of pressures in proximal and distal
tubules and peritubular capillaries of the rat kidney
during osmotic diuresis
Am. J. Physiol., 189 : 323, 1959
39. Gottschalk, C. W., Mylle, M.:
Micropuncture study of the mammalian urinary
concentrating mechanism: evidence for the counter current
hypothesis
Am. J. Physiol., 196 : 927, 1959
40. Harris, R. H., Yarger, W. E.:
Renal function after release of unilateral ureteral
obstruction in rats
Am. J. Physiol., 227 : 806, 1974
41. Heidenreich, O., Osswald, H.:
Effects of cardiac glycosides on kidneys
Handbook Exp. Pharmacol., 56 (1): 551-577, 1981

42. Heidenreich, P., May, H. U., Cook, Y.:
Die Resorption von Inulin und PAH in Ureter und Blase
bei kleinen Harnflüssen
Sonderdruck aus Klin. Wochenschr., 6, 1961
43. Hendler, E. K., Torretti, J., Weinstein, E.,
Epstein F. H.:
Functional significance of the distribution of
Na-K-ATPase within the kidney
J. Clin. Invest., 48 : 37a, 1969
44. Hendler, E. D., Torretti, J., Epstein, F. H.:
The distribution of sodium potassium activated adenosine
triphosphatase in medulla and cortex of the kidney
J. Clin. Invest., 50 : 1329, 1971
45. Hinsberg, K.:
X. Kohlehydrate und Ketonkörper
3. Inulin
in: Alken, C. E., Dix, W. W., Weyrauch, H. M.,
Wildbolz, E. (Herausgeber):
Handbuch der Urologie, Band III: Symptomatologie und
Untersuchung von Blut, Harn und Genitalsekreten
(S. 255-256),
Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer-Verlag, 1960
46. Honda, N., Aizawa, C., Morikawa, A., Yoshitoshi, Y.:
Effect of elevated ureteral pressure on renal medullary
osmolal concentration in hydropenic raddids
Am. J. Physiol., 221 (3): 698, 1971
47. Hori, R. Takano, M., Okano, T., Kitazawa, S., Inni, K.:
Mechansisms of p-aminohippurate transport by brush-border
and basolteral membrane vesides isolated from rat kidney
cortex
Biochim. Biophys. Acta, 692 : 97-100, 1982
48. Horster, M., Valtin, H.:
Postnatal development of renal function: micropuncture
and clearance studies in the dog
J. Clin. Invest., 50 (4): 779, 1971
49. Horster, M., Schmid, H., Schmid, U.:
Aldosterone in vitro restores nephron Na-K-ATPase of
distal segments from adrenal-ectomized rabbits
Pflüger's Arch., 384 : 203, 1980
50. Horster, M. F., Gilg, A., Lory, P.:
Determinants of axial osmotic gradients in the
differentrating countercurrent system
Am. J. Physiol. 246 (Renal Fluid Electrolyte Physiol.
15): F124-F132, 1984
51. Huang, K, C., Lin, D. S. T.:

- Kinetic studies on transport of PAH and other organic acids in isolated renal tubules
Am. J. Physiol., 208 (2): 391, 1965
52. Huland, H., Gonnermann, D., Brenger, B., Schäfer, G.:
Reversibility of preglomerular active vasoconstriction
in the first weeks after complete unilateral ureteral
obstruction by inhibition of prostaglandin synthesis
J. Urol., 130 : 820-824, 1983
53. Jaenike, J.R., Bray, G. A.:
Effects of acute transitory urinary obstruction in
the dog
Am. J. Physiol. 199 (6): 1219, 1960
54. Jaenike, J. R.:
The renal response to ureteral obstruction: a model for
the study of factors which influence glomerular
filtration pressure
J. Lab. Clin. Med. 76 : 373-382, 1970
55. Jaenike, J. R.:
The renal functional defect of postobstructive
nephropathy. The effects of bilateral ureteral
obstruction in the rat
J. Clin. Invest., 51 : 2999-3006, 1972
56. Jacobson, M. P., Rodriguez, H. J., Hogan, W. C.,
Klahr, S.:
Mechanism of activation of renal Na-K-ATPase in the rat:
effects of reduction of renal mass
Am. J. Physiol., 239 (Renal Fluid Electrolyte Physiol.
8): F281, 1980
57. Jorgensen, P. L.:
Sodium and potassium ion pump in kidney tubules
Phys. Rev., 60 (3): 864, 1980
58. Katz, A. I., Epstein, F. H.:
The role of sodium-potassium-activated adenosine
triphosphatase in the reabsorption of sodium by the
kidney
J. Clin. Invest., 46 (12): 1999, 1967
59. Katz, A. J., Lindheimer, M. D.:
Relation of Na-K-ATPase to acute changes in renal tubular
sodium and potassium transport
J. Gen. Physiol., 66 : 209-222, 1975
60. Katz, A. I., Doucet, A., Morel, F.:
Na-K-ATPase along the rabbit, rat, and mouse nephron
Am. J. Physiol., 237 (2) (Renal Fluid Electrolyte
Physiol. 6 (2)): F114-F120, 1979
61. Katz, A. I.:

Renal Na-K-ATPase: its role in tubular sodium and potassium transport
Am. J. Physiol., 242 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 11): F207-F219, 1982

62. Kerr, W. S., jr.:
Effects of complete ureteral obstruction for one week on kidney function
J. Appl. Physiol., 6 : 762, 1954
63. Kerr, W. S., jr.:
Effect of complete ureteral obstruction in dogs on kidney function
Am. J. Physiol., 184 : 521, 1956
64. Kettyl, W. M., Horster, M., Thurnau, K., Valtin, H.:
Cryoscopic determination of renal tissue osmolality by an ultramicro method
Pflüger's Arch., 321 : 83-89, 1970
65. Knepper, M. A.:
Urea transport in nephron segments from medullary rays of rabbits
Am. J. Physiol., 244 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 13): F622-F627, 1983
66. Knepper, M. A.:
Urea transport in isolated chick ascending limbs and collecting ducts from rats
Am. J. Physiol., 245 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 14): F634-F639, 1983
67. Knox, W. H., Sax, I. A., Wilson, D. R., Sen, A. K.:
Effect of osmolality on renal medullary Na-K-ATPase activity in the post-obstructive kidney
Can. J. Physiol. Pharmacol., 55 : 1112, 1977
68. Kokko, J. P., Rector, F. C., jr.:
Countercurrent multiplication without active transport in inner medulla
Kidney Int., 2 : 214-223, 1972
69. Kuhn, W., Ryffel, K.:
Herstellung konzentrierter Lösungen aus verdünnten durch bloße Membranwirkung. Ein Modellversuch zur Funktion der Niere
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 276 : 145-178, 1942
70. Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L., Randall, R. J.:
Protein measurement with the tolin phenol reagent
J. Biol. Chem., 193 : 265, 1951
71. Malvin, R. L., Kutcha, H., Ostermann, F.:
Decreased nephron population resulting from increased

ureteral pressure

Am. J. Physiol., 207 (4): 835, 1964

72. Marin, R., Proverbio, T., Proverbio, F.:
Characterization of the Na⁺,K⁺-ATPase activity
of basolateral plasma membranes of kidney proximal
tubular cells from young and old rats
Biochem. Pharmacol., 34 (24): 4197, 1985
73. Martinez-Maldonado, M., Allen, J. C., Eknayan, G.,
Suki, W., Schwartz, A.:
Renal concentrating mechanism: possible role for sodium
potassium activated adenosine triphosphatase
Science, 165 : 807, 1969
74. Martinez-Maldonado, M., Eknayan, G., Allen, J. C.,
Suki, W. N., Schwartz, A.:
Urine dilution and concentration after digoxin infusion
into the renal artery of dogs
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 134 : 855, 1970
75. Martinez-Maldonado, M., Allen, J. C., Inagaki, C.,
Tsaparas, N., Schwartz, A.:
Renal sodium-potassium-activated adenosine
triphosphatase and sodium reabsorption
J. Clin. Invest., 51 : 2544, 1972
76. Mc Dougal, W. S., Wright, F. S.:
Defect in proximal and distal sodium transport in
post-obstructive diuresis
Kidney Intern., 2 : 304-317, 1972
77. Moody, T. E., Vaughan, E. D., jr., Gillenwater, J. Y.:
Relationship between renal blood flow and ureteral
pressure during 18 hours of total unilateral ureteral
occlusion
Invest. Urol., 13 : 246-251, 1975
78. Moody, T. E., Vaughan, E. D., Wyker, A. T.,
Gillenwater, J. Y.:
The role of intrarenal angiotensin II in the hemodynamic
response to unilateral obstructive uropathy
Invest. Urol., 14 : 390, 1977
79. Moody, T. E., Vaughan, E. D., jr., Gillenwater, J. Y.:
Comparison of the renal hemodynamic response to
unilateral and bilateral ureteral occlusion
Invest. Urol., 14 : 455, 1977
80. Morrison, A. R., Nishikawa, K., Needleman, P.:
Thromboxane A₂ biosynthesis in the ureter-obstructed
isolated perfused kidney of the rat
J. Pharmacol. Exp. Ther., 205 : 1, 1978
81. Morrison, A. R., Thornton, F., Blumberg, A.,

Vaughan, E. E.:

Thromboxane A_2 is the major arachidonic acid metabolite of human cortical hydronephrotic tissues
Prostaglandins, 21 : 471-481, 1981

82. Murphy, G. P., Scott, W. W.:
The renal hemodynamic response to acute and chronic ureteral occlusions
J. Urol., 95 : 636, 1966
83. Nash, F. D., Selkurt, E. E.:
Effects of elevated ureteral pressure on renal blood flow
Circ. Res., 15 (Suppl. 1): 142, 1964
84. Nechay, B. D., Nelson, J. A.:
Renal ouabain-sensitive adenosine triphosphatase activity and Na⁺-reabsorption
J. Pharmacol. Exp. Ther., 175 : 717, 1970
85. Nelson, J. A., Nechay, B. R.:
Effects of cardiac glycosides on renal adenosine triphosphatase activity and Na⁺-reabsorption in dogs
J. Pharmacol. Exp. Ther., 175 (3): 727, 1970
86. Nishikawa, K., Morrison, A. R., Nishikawa, K.:
Exaggerated prostaglandin biosynthesis and its influence on renal vascular resistance in the isolated hydronephrotic rabbit kidney
J. Clin. Invest., 59 : 1143, 1977
87. Pennell, J. P., Lacy, F. B., Jannison, R. L.:
An in vivo study of the concentrating process in the descending limb of Henle's loop
Kidney Int., 5 : 337-347, 1974
88. Philipp, G.:
Spezifische Herzglykosidrezeptoren.
Bindungsstudien mit H-g-Strophanthin an verschiedenen Organen und Zellmembranen der Ratte und des Meerschweinchens
Dissertationschrift, München 1980
89. Reubi, F.:
Clearancetechniken (S. 85-97)
In: Nierenkrankheiten
Bern-Stuttgart-Wien: Verlag Hans Huber, 3. Auflage 1982
90. Richterrich, R.:
Klinische Chemie. Theorie und Praxis
Basel, München, Paris, London, New York, Sydney: S. Karger, 3. Auflage 1971
91. Salomon, L. L., Lanza, F. L.:
Glomerular filtration in the rat after ureteral ligation
Am. J. Physiol., 202 (3): 559-564, 1962

92. Scatchard, G.:
The attractions of proteins for small molecules and ions
N. Y. Acad. Sci., 51 : 660, 1949
93. Schmid, U., Horster, M.:
Na-K-ATPase: Methodology for quantification in
microdissected renal tubule segments from freeze dried
and fresh tissue
Methods in Pharmacol. Vol. 4 b Renal Pharmacology Plenum
Press New York 1978
94. Schoner, W., von Ilberg, C., Kramer, R., Seubert, W.:
On the mechanism of Na⁺ - and K⁺ stimulated
hydrolysis of adenosinetriphosphatase. 1. Purification
and properties of Na⁺ - and K⁺-activated ATPase
from ox brain
Eur. J. Biochem., 1 : 334, 1967
95. Selkurt, E. E.:
Effect of ureteral blockade on renal blood flow and
urinary concentrating ability
Am. J. Physiol., 205 : 286, 1963
96. Shaver, J. L. F., Stirling, C.:
Ouabain binding to renal tubules of the rabbit
J. Cell Biol., 76 : 278-292, 1978
97. Silva, P., Torretti, J., Hayslett, J. P.,
Epstein, F. H.:
Relation between Na-K-ATPase activity and respiratory
rate in the rat kidney
Am. J. Physiol., 230 (5): 1432, 1976
98. Sodeman, W. A., jr., Sodeman, W. A.:
Pathologic Physiology: Mechanisms of disease
Philadelphia, London, Toronto: W. B. Saunders Company,
pp. 347-349, 1974
99. Stephenson, J. L.:
Concentration of urine in a central core model of the
renal counterflow system
Kidney Int., 2 : 85-94, 1972
100. Suki, W. N., Guthrie, A. G., Martinez-Maldonado, M.,
Eknoyan, G.:
Effects of ureteral pressure elevation on renal
hemodynamics and urine concentration
Am. J. Physiol., 220 (1): 38-43, 1971
101. Taylor, M. G., Ullmann, E.:
Glomerular filtration after obstruction of the ureter
J. Physiol., 157 : 38, 1961
102. Thirakomen, K., Kozlov, N., Arruda, J. A. L.,

- Kurtzman, N. A.:
Renal hydrogen ion secretion after release of unilateral ureteral obstruction
Am. J. Physiol., 231 (4): 1233-1239, 1976
103. Thureau, K.:
Renal hemodynamics
Am. J. Med. 36 : 698, 1964
104. Toyoda, Y.:
A new technique for catheterless cutaneous ureterostomy
J. Urol. 117 : 276, 1977
105. Tune, B. M.:
Characteristics of p-aminohippurate transport in proximal renal tubules
Am. J. Physiol., 217 (4): 1057, 1969
106. Valtin, H.:
Funktion der Niere. Mechanismen zur Regulation des Wasser- und Elektrolythaushaltes im gesunden Organismus
Schattauer Verlag Stuttgart-New York 1978
107. Vaughan, E. D., jr., Sweet, R. E., Gillenwater, J. Y.:
Unilateral ureteral occlusion: Pattern of nephron repair and compensatory response
J. Urol. 109 : 979-982, 1973
108. Wesson, L. G.:
2. Effective renal plasma flow
b) Analytical methods in:
Alken, C. E., Dix, V. W., Weyrauch, H. M., Wildbolz, E. (Herausgeber): Handbuch der Urologie, Band II: Physiologie und pathologische Physiologie (S. 304-309)
Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag, 1965
109. Williams, R. D., Fanestil, D. D.:
Na-K-ATPase deficit in hydronephrotic rats
Clin. Res., 15 : 437, 1967
110. Williams, R. D., Fanestil, D. D., Blackard, C. E.:
Etiology of post-obstructive diuresis. Ouabain sensitive adenosine triphosphatase deficit and elevated solute excretion in the post-obstructed dog kidney
Invest., Urol. 14 : 148, 1976
111. Wilson, D. R., Knox, W. H., Hall, E., Sen, A. K.:
Renal sodium and potassium activated adenosine triphosphatase during post obstructive diuresis in the rat
Can. J. Physiol. Pharmacol., 52 : 106, 1974
112. Wilson, D. R.:
The influence of volume expansion on renal function

after relief of chronic unilateral ureteral obstruction
Kidney Intern., 5 : 402-410, 1974

113. Wilson, D. R.:
Nephron functional heterogeneity in the post-obstructive
kidney
Kidney Int. 7 : 19, 1975
114. Wilson, D. R.:
Renal function during and following obstruction
Ann. Rev. Med., 28 : 329, 1977
115. Wilson, D. R., Knox, W. H., Sax, J. A., Sen, A. K.:
Post obstructive nephropathy in the rat: relationship
between Na-K-ATPase activity and renal function
Nephron, 22 : 55-62, 1978
116. Wilson, D. R.:
Pathophysiology of obstructive nephropathy
Kidney Intern., 18 : 281-292, 1980
117. Yarger, W. E., Griffith, L. D.:
Intrarenal hemodynamics following chronic unilateral
ureteral obstruction in the dog
Am. J. Physiol., 227 (4): 816, 1974

Lebenslauf

1. Persönliche Daten

Name: Büttner

Vorname: Michael

Geburtsdatum: 2.3.59

Geburtsort: Frankfurt am Main

Vater: Dr. rer. nat. Gert Büttner

geb. 28.6.24 in Essen

Sicherheitsbeauftragter der Fa. Hoechst a. D.

Mutter: Anne Büttner, geb. Friz

geb. 12.4.24 in Schorndorf

Hausfrau

Konfession: evangelisch

Familienstand: ledig

2. Schulischer Werdegang

1965 - 1969 Volksschule in Bobingen

1969 - 1978 Gymnasium in Königsbrunn

29.6.78 Abitur am Gymnasium Königsbrunn

Mai 1979 - November 1985 Medizinstudium an der Ludwig-Maximilians-

Universität in München

4.12.85 Approbation als Arzt in München

ab November 1982 Doktorand am Institut für chirurgische

Forschung der Universität München

2.1.86 - 1.5.87 zivildienstleistender Arzt an der chirurgischen

Klinik der Universität Heidelberg
seit 1.6.87 wissenschaftliche Hilfskraft am physiologischen
Institut der Universität München

Danksagung

Bei Herrn Prof. Dr. A. Baethmann und Herrn Prof. Dr. Dr. W. Brendel möchte ich mich für Überlassung des Themas und die Möglichkeit, an ihrem Institut forschen zu dürfen, sehr herzlich bedanken. Herrn Prof. Dr. E. Erdmann danke ich besonders für die großzügige Bereitstellung eines Arbeitsplatzes zur Messung der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$ in seinem Labor. Für viele hilfreiche Diskussionen bin ich Herrn Prof. Dr. M. Horster außerordentlich dankbar.

